

**Entwicklung einer praxisgerechten Analysenmethode
für die Umweltschadstoffgruppe der polychlorierten Terphenyle**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer
Doktorin der Naturwissenschaften

(Dr.rer.nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Katharina Schäfer
aus Wolfenbüttel

1. Referent: Professor a. D. Dr. mult. Dr. h.c. Müfit Bahadır
2. Referent: Professor Dr. Peter Winterhalter
eingereicht am: 02.05.2018
mündliche Prüfung (Disputation) am: 28.09.2018
Druckjahr 2018

Vorveröffentlichungen der Dissertation

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

Publikationen

K. Schäfer, H. Wichmann, F. Surup, M. Bahadir (2018): New Spectroscopic Data of 17 Coplanar Polychlorinated Terphenyls Known as Scarcely Investigated Environmental Pollutants. CLEAN-Soil, Air, Water, 1800055, 1 – 7.

DOI: 10.1002/clen.201800055

H. Wichmann, K. Schäfer, K. Ibrom, F. Jüttner, J. Saatz, R. Vogt, M. Bahadir (2015): Synthesis of coplanar PCT as reference substances for the residue analysis of polychlorinated terphenyls. Chemosphere 137, 157 – 165.

Posterbeitrag

Schäfer, K., Wichmann, H., Bahadir, M.: Development of a practical analytical method for polychlorinated terphenyls. (Poster). 5. Braunschweiger Jungchemiker Tagung, Braunschweig (2014).

Die vorliegende Arbeit wurde von Juli 2013 bis Februar 2017 am Institut für Ökologische und Nachhaltige Chemie der TU Braunschweig unter Leitung von Herrn Prof. em. Dr. mult. Dr. h.c. Ali Müfit Bahadır angefertigt.

Danksagung

Danken möchte ich

Herrn Prof. em. Dr. mult. Dr. h.c. Ali Müfit Bahadır für die Möglichkeit zur Anfertigung dieser Arbeit, für sein mir entgegengebrachtes Vertrauen und sein förderndes Interesse. Durch seine kompetente Betreuung unterstützte er mein Engagement und meine wissenschaftliche Entwicklung.

Herrn Prof. Dr. Peter Winterhalter für die Übernahme des Korreferats.

Herrn Dr. Hubertus Wichmann für seinen Glauben an diese Arbeit sowie die vielen zielführenden Ratschläge und Diskussionen, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. Uwe Schröder für die finanzielle Unterstützung und Bereitstellung der Räumlichkeiten im Niedersächsischen Fahrzeugzentrum Fahrzeugtechnik.

Herrn apl. Prof. Dr. agr. Robert Kreuzig, Frau Dr. Marit Kolb, Herrn Dipl. Ing. Jürgen Hamann, Herrn Dr. Roland Vogt, Frau Dr. Cornelia Meier und Frau Dipl.-Min. Christiane Schmidt für die fachliche Unterstützung, gute Zusammenarbeit und angenehme Arbeitsatmosphäre im Institut.

Frau Dr. Kerstin Ibrom für die Durchführung der NMR-Messungen und Berechnungen sowie Frau Karin Kadhim für die Ausführung der FTIR-Messungen.

Herrn Prof. Dr. Marc Stadler und Herrn Dr. Frank Surup vom Helmholtz-Zentrum für Infektionsforschung in Braunschweig für die Möglichkeit zur Nutzung der präparativen HPLC sowie für die Unterstützung bei den NMR-Auswertungen.

meiner Masterandin Sarah Rieger und meiner studentischen Hilfskraft Janik Rass für ihre unterstützenden und hilfreichen Arbeiten.

dem Labor 314, der NFF-Crew und den Schröders für die freundschaftliche Arbeitsatmosphäre und Hilfsbereitschaft im Laboralltag. Die zahlreichen lustigen Gespräche und Erlebnisse haben meine Doktorandenzeit sehr bereichert.

meinen Eltern und Freunden für die moralische Unterstützung sowie ihren Glauben in mich, dass ich alle Ziele erreichen kann, die ich mir stecke.

Alex für das großes Interesse an meiner Arbeit, seine liebevolle Unterstützung und die vielen motivierenden Worte. Mit seiner unendlichen Geduld war er stets für mich da und gab mir den nötigen Rückhalt.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	VI
Abkürzungsverzeichnis	IX
Formelzeichen	XI
1 Einleitung	1
2 Zielsetzung	3
3 Polychlorierte Terphenyle	4
3.1 Eigenschaften	4
3.2 Vorkommen	5
3.2.1 Industrielle Herstellung und Verwendung	5
3.2.2 Entstehung bei Verbrennungsprozessen	6
3.3 Umweltverhalten und Toxikologie	8
3.4 Thermolyseverhalten	11
3.5 Analytik	12
3.6 Synthesestrategien	20
3.6.1 Suzuki-Kupplung	21
4 Material und Methoden	25
4.1 Synthese coplanarer PCT-Kongenerer	25
4.1.1 Verwendete Chemikalien	26
4.1.2 Allgemeine Synthesevorschrift	27
4.1.3 Herstellung der PCT-Referenzstandards	31
4.1.3.1 Isotopenmarkierung der PCT-Referenzsubstanzen	32
4.2 GC/MS Methodenoptimierung	34
4.3 PCT-Analysenverfahren	35
4.4 Methodvalidierung	39
4.4.1 Herstellung artifizieller Proben	40
4.4.1.1 Brandprobe	40
4.4.1.2 Bodenprobe	41
4.4.1.3 Fettprobe	42
4.4.2 Linearität	42
4.4.3 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen	46

Inhaltsverzeichnis

4.4.3.1	Nachweisgrenze	47
4.4.3.2	Erfassungsgrenze.....	48
4.4.3.3	Bestimmungsgrenze	48
4.4.4	Selektivität und Spezifität	49
4.4.5	Präzision	51
4.4.6	Wiederfindungsrate	53
4.4.7	Richtigkeit.....	53
4.5	HPLC-Florisil	54
5	Ergebnisse und Diskussion	57
5.1	Synthese coplanarer PCT-Kongenere.....	57
5.1.1	Isotopenmarkierung der PCT-Referenzsubstanzen	83
5.2	GC/MS-Methodenoptimierung.....	85
5.3	Methodenvalidierung	87
5.3.1	Charakterisierung der hergestellten artifiziellen Proben	88
5.3.1.1	Brandprobe.....	88
5.3.1.2	Bodenprobe	90
5.3.1.3	Fettprobe	92
5.3.2	Linearität	93
5.3.3	Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen.....	103
5.3.4	Selektivität und Spezifität	105
5.3.5	Wiederfindungsrate	110
5.3.6	Präzision	114
5.3.6.1	Messpräzision.....	114
5.3.6.2	Methodenpräzision	117
5.3.7	Richtigkeit.....	120
5.4	HPLC-Florisil	124
5.5	Bewertung der Ergebnisse und Ausblick.....	131
6	Zusammenfassung.....	135
7	Literatur	XII
Anhang	XXV

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	PCT-Grundstrukturen	4
Abbildung 2:	Bildung von aromatischen Verbindungen bei Verbrennungs- prozessen.....	7
Abbildung 3:	Mechanismus der AhR vermittelten Genexpression.....	10
Abbildung 4:	Sauerstoffhaltige Thermolyseprodukte von 2',3,3'',5,5''- Pentachlor- <i>p</i> -terphenyl (Verbrennungssofen, 600 °C)	12
Abbildung 5:	GC-Chromatogramm von Aroclor 5460 (oben) vs. GC- Chromatogramm von einer Thunfisch-Probe (unten)	13
Abbildung 6:	Schema zur Analytik der PCT	16
Abbildung 7:	Die Suzuki-Reaktion.....	21
Abbildung 8:	Katalysezyklus der Suzuki-Kupplung	22
Abbildung 9:	Syntheserouten zur Darstellung definierter PCT	23
Abbildung 10:	Produktbildung am Beispiel der Synthese des PCT 2	24
Abbildung 11:	Ablauf des PCT-Analysenganges.....	37
Abbildung 12:	El-Massenspektrum von PCT 2 (tetrachloriert)	58
Abbildung 13:	El-Massenspektrum von PCT 21 (pentachloriert)	58
Abbildung 14:	El-Massenspektrum von PCT 26 (hexachloriert).....	59
Abbildung 15:	El-Massenspektrum von PCT 29 (heptachloriert)	59
Abbildung 16:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 2	66
Abbildung 17:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 3	67
Abbildung 18:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 5	68
Abbildung 19:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 10	69
Abbildung 20:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 11	70
Abbildung 21:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 13	71
Abbildung 22:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 15	72
Abbildung 23:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 16	73
Abbildung 24:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 17	74
Abbildung 25:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 18	75
Abbildung 26:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 21	76
Abbildung 27:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 22	77
Abbildung 28:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 23	78
Abbildung 29:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 25	79

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 30:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 26	80
Abbildung 31:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 28	81
Abbildung 32:	Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 29	82
Abbildung 33:	Gaschromatogramm eines 100 pg/ μ L PCT-Mischstandards.....	86
Abbildung 34:	Gaschromatogramm der Brandprobe	88
Abbildung 35:	Säulenchromatographische Clean-Up und Florisil-Säule der Brandprobe (Analyse 2)	89
Abbildung 36:	Gaschromatogramm der Bodenprobe	90
Abbildung 37:	Säulenchromatographische Clean-Up und Florisil-Säule der Bodenprobe (Analyse 3).....	91
Abbildung 38:	Säulenchromatographische Clean-Up und Florisil-Säule der Fettprobe (Analyse 4).....	92
Abbildung 39:	Gaschromatogramm eines 6 pg/ μ L je Kongener PCT-Mischstandards.....	104
Abbildung 40:	Gaschromatogramm des 500 pg/ μ L PCT-Mischstandards versetzt mit den analytähnlichen Verbindungen gemessen im SIM-Modus	107
Abbildung 41:	Wiederfindungsraten der Analyse 1	109
Abbildung 42:	Wiederfindungsraten der Brandprobe (Analyse 2)	111
Abbildung 43:	Wiederfindungsraten der Bodenprobe (Analyse 3).....	112
Abbildung 44:	Wiederfindungsraten der Fettprobe (Analyse 4).....	113
Abbildung 45:	Variationskoeffizienten der Mehrfachmessungen von 10 pg/ μ L, 50 pg/ μ L und 100 pg/ μ L	116
Abbildung 46:	Variationskoeffizienten der Analysen 1 bis 4.....	119
Abbildung 47:	Streuung der Messwerte der Analysen 1 und 3 für PCT 2	123
Abbildung 48:	Wiederfindungsraten der 29 PCT nach Trennung mittels der klassischen Florisil-Säule	125
Abbildung 49:	Chromatogramm, erhalten aus dem ersten HPLC Florisil-Experi- ment mit Angabe der prozentualen Anteile der Peakflächen.....	126
Abbildung 50:	Wiederfindungsraten der 29 PCT, ermittelt aus dem ersten HPLC Florisil-Experiment.....	127
Abbildung 51:	Chromatogramm, erhalten aus dem zweiten HPLC Florisil-Experi- ment mit Angabe der prozentualen Anteile der Peakflächen.....	128
Abbildung 52:	Wiederfindungsraten der 29 PCT und fünf nicht-coplanaren PCT, ermittelt aus dem zweiten HPLC Florisil-Experiment.....	129

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 53: Variationskoeffizienten ermittelt aus den Florisil-Experimenten	130
Abbildung A 1: Molekülionen-Cluster von chlorierten aromatischen Verbindungen in EI-Massenspektren.....	XXV

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht PCT-Kongenere	4
Tabelle 2:	Hersteller und Produktnamen von PCT	5
Tabelle 3:	LD ₅₀ -Werte von Aroclor-Mischungen	9
Tabelle 4:	PCT-Kongenere der Thermolyseexperimente	11
Tabelle 5:	Die 29 PCT-Indikatorkongenere	17
Tabelle 6:	Publikationsstatus der 29 PCT	25
Tabelle 7:	Verwendete Chemikalien	26
Tabelle 8:	Parameter der Säulenchromatographie	27
Tabelle 9:	HPLC-Parameter (NP-HPLC, semipräparativ)	28
Tabelle 10:	HPLC-Parameter (RP-HPLC, präparativ)	28
Tabelle 11:	Edukte der Variante 1	29
Tabelle 12:	Edukte der Variante 2	29
Tabelle 13:	GC/MS Parameter	30
Tabelle 14:	NMR-Parameter	30
Tabelle 15:	FTIR-Parameter	30
Tabelle 16:	Übersicht der 29 PCT-Referenzstandards	31
Tabelle 17:	GC/MS Methodenoptimierung	34
Tabelle 18:	Verwendete Chemikalien des Analyseanges	35
Tabelle 19:	Konditionierung der Adsorbentien	36
Tabelle 20:	Theoretische Intensitätsverhältnisse inklusive Toleranzgrenzen	38
Tabelle 21:	Lösungsmittel der Soxhlet-Extraktion	40
Tabelle 22:	GC/MS-Screening-Parameter	40
Tabelle 23:	Prüfbericht des Bodens, LUFA Nord-West	41
Tabelle 24:	Verteilung der Fettsäuren im Sonnenblumenöl	42
Tabelle 25:	Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze: Definitionen	46
Tabelle 26:	k-Faktoren zur Berechnung der Bestimmungsgrenze	49
Tabelle 27:	Übersicht der analytähnlichen Verbindungen	50
Tabelle 28:	Auszug aus der Tabelle nach David	51
Tabelle 29:	Auszug aus der Tabelle nach Grubbs	52
Tabelle 30:	Auszug aus der t-Tabelle	54
Tabelle 31:	HPLC-System der Firma Agilent Technologies, Deutschland	54
Tabelle 32:	Verwendete HPLC-Lösungsmittel	55

Tabellenverzeichnis

Tabelle 33:	HPLC-Parameter für die Verwendung der Florisil-Säule	55
Tabelle 34:	EI-MS-Daten der PCT-Kongenere [m/z (%)]	60
Tabelle 35:	¹ H-NMR-Daten der PCT-Kongenere (I)	62
Tabelle 36:	¹ H-NMR-Daten der PCT-Kongenere (II)	63
Tabelle 37:	¹ H-NMR-Daten der PCT-Kongenere (III)	64
Tabelle 38:	¹³ C-NMR-Daten der PCT-Kongenere	65
Tabelle 39:	IR-Daten von PCT 2	66
Tabelle 40:	IR-Daten von PCT 3	67
Tabelle 41:	IR-Daten von PCT 5	68
Tabelle 42:	IR-Daten von PCT 10	69
Tabelle 43:	IR-Daten von PCT 11	70
Tabelle 44:	IR-Daten von PCT 13	71
Tabelle 45:	IR-Daten von PCT 15	72
Tabelle 46:	IR-Daten von PCT 16	73
Tabelle 47:	IR-Daten von PCT 17	74
Tabelle 48:	IR-Daten von PCT 18	75
Tabelle 49:	IR-Daten von PCT 21	76
Tabelle 50:	IR-Daten von PCT 22	77
Tabelle 51:	IR-Daten von PCT 23	78
Tabelle 52:	IR-Daten von PCT 25	79
Tabelle 53:	IR-Daten von PCT 26	80
Tabelle 54:	IR-Daten von PCT 28	81
Tabelle 55:	IR-Daten von PCT 29	82
Tabelle 56:	GC/MS Parameter der PCT-Analysenmethode	85
Tabelle 57:	Retentionszeiten (RT) der 29 PCT-Kongenere	86
Tabelle 58:	Verfahrenskennndaten der Kalibrierung 1	94
Tabelle 59:	Prüfgrößen der Kalibrierung 1	95
Tabelle 60:	Verfahrenskennndaten Kalibrierung 2	96
Tabelle 61:	Prüfgrößen Kalibrierung 2	97
Tabelle 62:	Verfahrenskennndaten der Kalibrierung 3	98
Tabelle 63:	Prüfgrößen der Kalibrierung 3	99
Tabelle 64:	Verfahrenskennndaten der Kalibrierung 4	100
Tabelle 65:	Prüfgrößen der Kalibrierung 4	101

Tabellenverzeichnis

Tabelle 66:	Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze der 29 PCT-Referenzsubstanzen	103
Tabelle 67:	Übersicht der Retentionszeiten (RT) der analytähnlichen Verbindungen	105
Tabelle 68:	PG_{David} und PG_{Grubbs} der Mehrfachmessungen	115
Tabelle 69:	PG_{David} und PG_{Grubbs} der Analysen 1 bis 4	118
Tabelle 70:	t-Werte der Analysen 1 bis 4	121
Tabelle 71:	Vergleich der Ergebnisse zwischen Analyse 1 und 3 für PCT 2....	122
Tabelle 72:	Sortierung der PCT nach Diederwinkelgröße	132
Tabelle 73:	Akzeptable Wiederfindungsraten in Abhängigkeit der Konzentration des Analyten.....	133
Tabelle A 1:	Auszug aus der F -Tabelle ($P = 99\%$)	XXVI
Tabelle A 2:	Flächen, Standardabweichung s und Variationskoeffizient V_k der 6-fachen Messung des 10 pg/ μ L PCT-Mischstandards.....	XXVII
Tabelle A 3:	Flächen, Standardabweichung s und Variationskoeffizient V_k der 6-fachen Messung des 50 pg/ μ L PCT-Mischstandards.....	XXVIII
Tabelle A 4:	Flächen, Standardabweichung s und Variationskoeffizient V_k der 6-fachen Messung des 100 pg/ μ L PCT-Mischstandards.....	XXIX
Tabelle A 5:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 1	XXX
Tabelle A 6:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 2	XXXI
Tabelle A 7:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 3	XXXII
Tabelle A 8:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 4	XXXIII
Tabelle A 9:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der klassischen Florisil-Säule	XXXIV
Tabelle A 10:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k des HPLC Florisil-Versuches 1	XXXV
Tabelle A 11:	Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k des HPLC Florisil-Versuches 2	XXXVI

Abkürzungsverzeichnis

AhR	Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor
ATR	abgeschwächte Totalreflexion (engl. attenuated total reflection)
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DIN	Deutsches Institut für Normung
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
dl-PCB	dioxinähnliche polychlorierte Biphenyle (engl. dioxin-like PCB)
EI	Elektronenstoßionisation
EN	Europäische Norm
FTIR	Fourier-Transformations-Infrarotspektrometer
h	Stunde (lat. hora)
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie
HRMS	hochauflösende Massenspektrometrie
IT-MS	Ionenfallen-Massenspektrometrie (engl. ion trap)
GC	Gaschromatographie
GCxGC	zweidimensionale Gaschromatographie
IÖNC	Institut für Ökologische und Nachhaltige Chemie (TU Braunschweig)
ISO	Internationale Organisation für Normung
IVF	In vitro Fertilisation
k.A.	keine Angaben
LD ₅₀	letale Dosis, bei der 50% der Testorganismen absterben
<i>m</i>	meta
MS	Massenspektrometrie
MS/MS	Tandem-Massenspektrometrie
MUPI-MS	Multiphotonen-Ionisations-Massenspektrometrie
NCI	Negative chemische Ionisation
NMR	Kernspinresonanz (engl. nuclear magnetic resonance)
NP	Normalphase (engl. normal phase)
<i>o</i>	ortho
<i>p</i>	para
PAK	polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe
PCB	polychlorierte Biphenyle
PCDD/F	polychlorierte Dibenzo- <i>p</i> -dioxine und Dibenzofurane
PCQ	polychlorierte Quaterphenyle

Abkürzungsverzeichnis

PCT	polychlorierte Terphenyle
$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$	Tetrakistriphenylphosphin-Palladium(0)
POP	persistente organische Schadstoffe (engl. persistent organic pollutants)
RP	Umkehrphase (engl. reversed phase)
SIM	Einzelmassenregistrierung (engl. selected ion monitoring)
TOF-MS	Flugzeit-Massenspektrometrie (engl. Time-of-flight mass spectrometry)
u	Atomare Masseneinheit (engl. unified atomic mass unit)
USEPA	United States Environmental Protection Agency, US-amerikanische Bundesumweltbehörde
VB	Vertrauensbereich
WFR	Wiederfindungsrate

Formelzeichen

a	Achsenabschnitt der Kalibriergeraden
b	Steigung der Kalibriergeraden
DS^2	Differenz der Abweichungsvarianzen
d_i	Residuen
f	Freiheitsgrad
μ	Sollwert
n	Anzahl der Messungen
P	statistische Wahrscheinlichkeit, Signifikanzniveau
PG	Prüfgröße
Q_{xx}	Quadratsumme
r	Korrelationskoeffizient
r^2	Bestimmtheitsmaß
s	Standardabweichung
s^2	Varianz
s_{x0}	Verfahrensstandardabweichung
s_y	Reststandardabweichung, Streuung der Messwerte um die Kalibriergerade
s_{y1}	Reststandardabweichung der linearen Funktion
s_{y2}	Reststandardabweichung der quadratischen Funktion
t	Tabellenwert der t -Verteilung
V_k	Variationskoeffizient
V_{k0}	Verfahrensvariationskoeffizient
x_{BG}	Bestimmungsgrenze
x_{EG}	Erfassungsgrenze
x_{NG}	Nachweisgrenze

1 Einleitung

Seit Beginn der Industrialisierung und der fortwährenden technischen Entwicklung werden Mensch und Umwelt mit anthropogen produzierten Chemikalien belastet. Diese Umweltrelevanz zeigte sich erstmals in den 1960er Jahren, als u.a. von der reproduktionsschädigenden Wirkung des Insektizids DDT (Dichlordiphenyltrichlor-ethan) bei Vögeln berichtet wurde, oder schäumende Flüsse, verursacht durch Waschmitteltenside, das Landschaftsbild prägten. Spätestens seit dem Seveso-Unglück im Jahr 1976, bei dem in einer chemischen Fabrik eine Synthese von 2,4,5-Trichlorphenol außer Kontrolle geriet und dadurch das benachbarte Gebiet mit dem dabei auftretenden Nebenprodukt 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (2,3,7,8-TCDD) verseucht wurde, kam es zum Umdenken in der Politik. Es entwickelte sich langsam ein neues Umweltbewusstsein, das sich in Gesetzen, Auflagen und einem ständigen Umweltmonitoring widerspiegelte. Besonderes Augenmerk wurde auf ökotoxikologisch kritische Substanzen gelegt, die persistent und lipophil sind und dadurch eine hohe Bioakkumulation zeigen sowie eine hohe akute und/oder chronische Toxizität aufweisen. Zu diesen persistenten organischen Schadstoffen, auch POP (engl. persistent organic pollutants) genannt, zählen u.a. polychlorierte Dibenzo-*p*-dioxine und Dibenzofurane (PCDD/F), polychlorierte Biphenyle (PCB), polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) und polychlorierte Terphenyle (PCT), die Stoffgruppe, die im Zentrum dieses Forschungsvorhabens steht [1].

Bis Ende der 1970er Jahre wurden ca. 60.000 t PCT weltweit produziert. Die Einsatzgebiete waren denen der PCB aufgrund ähnlicher struktureller sowie chemischen und physikalischen Eigenschaften analog: Weichmacher in synthetischen Harzen, Schmier- und Dichtungsmittel, Papierbeschichtungen, Druckerpatronen, Farben, Isolier- und Flammenschutzbeschichtungen [2]. Wichtig zu bemerken ist die Tatsache, dass PCT, genau wie andere organische Schadstoffe, fortwährend bei Verbrennungsprozessen unterschiedlicher Art gebildet und freigesetzt werden [3–5]. Außerdem entstehen sie als Nebenprodukt in industriellen chemischen Prozessen, wie z.B. der Kupfer-katalysierten Herstellung von Vinylchlorid [6]. Damit existieren Primär- und Sekundärquellen, aus denen PCT kontinuierlich in die Umwelt emittiert werden und sich in Nahrungsketten anreichern. Während für die PCDD/F, PCB und PAK bereits standardisierte Analysenmethoden und zahlreiche öko-/toxikologische Daten vorliegen, gibt es bei den PCT keine allgemein gültige Analytik und vergleichsweise wenige Publikationen. Bisherige Arbeiten beschränkten sich meist auf ein unsyste-

1 Einleitung

matisches Umweltmonitoring. Das fehlende Wissen liegt zum einen an der Komplexität dieser Stoffgruppe. Sie besteht aus 8557 Kongeneren [7], die sich gaschromatographisch auch mit heutigen Techniken nicht trennen lassen. Zum anderen gibt es, bis auf wenige spezielle Ausnahmen, keine kommerziell verfügbaren Referenzstandards, wie sie in der Analytik üblich und erforderlich sind.

Im Institut für Ökologische und Nachhaltige Chemie (IÖNC) der TU Braunschweig wurde 2010 der Entwurf für eine präzise PCT-Analytik, deren Clean-Up an die PCDD/F-Analytik angelehnt ist, erarbeitet, exemplarisch getestet und deren Ergebnisse veröffentlicht. Die Methode basiert auf einem modular aufgebauten säulenchromatographischen Clean-Up der Probenextrakte und dem Isolieren eines Satzes sogenannter Indikatorkongenere mittels des Adsorbens Florisil. Als Indikatorsubstanzen wurden nicht ortho substituierte PCT gewählt, die dadurch leicht eine coplanare Konformation einnehmen können. Außerdem wurde die Auswahl auf tetra- bis heptachlorierte PCT beschränkt. Diese Merkmale treffen auf 29 PCT zu, die in Anlehnung an die verwandten PCDD/F und PCB vermutlich toxikologisch am relevantesten sind. Diese 29 Indikatorverbindungen können dann mit einfacher Gaschromatographie/Massenspektrometrie (GC/MS) analysiert werden [5].

2 Zielsetzung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das Analysenkonzept zu einer einsatzbereiten Analysenmethode weiterzuentwickeln und diese in wissenschaftlich korrekter Weise zu validieren. Dafür mussten zunächst die zuvor erwähnten 29 PCT als analytische Referenzstandards hergestellt werden. Im IÖNC und im Arbeitskreis von Prof. Hopf der TU Braunschweig waren bereits 12 der Substanzen synthetisiert worden, wovon noch neun für diese Arbeit zur Verfügung standen. Somit sollten noch 20 PCT-Kongenere synthetisiert werden. Die erstmalige Charakterisierung der Einzelsubstanzen sollte mittels GC/MS, ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie sowie ATR-FTIR-Spektroskopie vorgenommen werden. Die experimentell erhaltenen IR-Spektren sollten mit theoretisch berechneten IR-Spektren, die mittels der GAUSSIAN- Software zuvor im IÖNC erhalten worden waren, verglichen werden.

Um die PCT-Analysenmethode eventuell durch eine Isotopenverdünnungsanalyse erweitern zu können, sollten erste Versuche zur Isotopenmarkierung der Referenzsubstanzen mittels Deuterierung durchgeführt werden.

Anschließend sollte die Methodenentwicklung und –validierung erfolgen, bei der folgende Kenngrößen bestimmt bzw. beschrieben werden sollten: Selektivität, Spezifität, Nachweis- und Bestimmungsgrenze, Linearität, Präzision, Richtigkeit und Wiederfindungsraten. Hierfür sollten zum Teil artifizielle Brand-, Boden- und Fettproben verwendet werden, die zuvor mittels unbelasteter Probenmaterialien und eines 29 PCT-Mischstandards hergestellt wurden.

Ein weiterer Aspekt bestand darin, das Abtrennen der 29 PCT mittels der Florisil-Säule zu optimieren. Unter den Gesichtspunkten Nachhaltigkeit, Zeit- und Lösemitelersparnis sollte die selbstgepackte Florisil-Chromatographiesäule durch eine Florisil-Säule für die Hochleistungsflüssigchromatographie substituiert werden.

3 Polychlorierte Terphenyle

3.1 Eigenschaften

Polychlorierte Terphenyle (PCT) sind Verbindungen, die aus einem zentralen Benzolring und zwei verknüpften Phenylringen bestehen, die in ortho-, meta- oder para-Position angeordnet sein können (Abbildung 1). An diesen Grundstrukturen können ein oder mehrere Wasserstoffe durch Chlor substituiert sein [2]. Daraus ergeben sich insgesamt 8557 mögliche Kongenere mit der allgemeinen Summenformel $C_{18}H_{14-x}Cl_x$ (Tabelle 1).

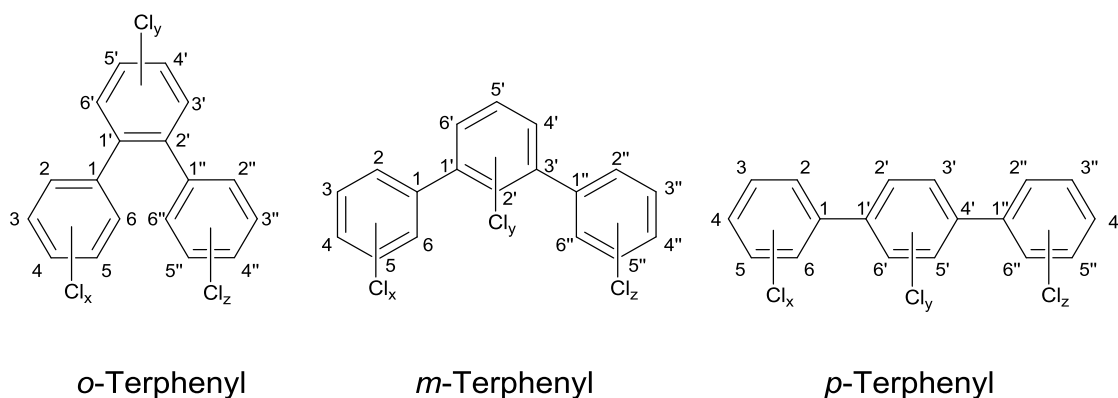


Abbildung 1: PCT-Grundstrukturen

Tabelle 1: Übersicht PCT-Kongenere [7]

Anzahl Cl	ortho-	meta-	para-	Σ
1	5	6	4	15
2	28	28	21	77
3	86	90	58	234
4	217	217	142	576
5	391	400	244	1035
6	574	574	356	1504
7	636	648	388	1672
8	574	574	356	1504
9	391	400	244	1035
10	217	217	142	576
11	86	90	58	234
12	28	28	21	77
13	5	6	4	15
14	1	1	1	3
Σ	3239	3279	2039	8557

3 Polychlorierte Terphenyle

PCT sind eng verwandt mit PCB, da sie sich nur um einen weiteren Phenylring unterscheiden. Sie ähneln sich in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften und somit auch in ihren Einsatzgebieten. Sie sind chemisch inert, nicht hydrolysierbar, beständig gegenüber Säuren und Basen, schwerflüchtig, feuerhemmend und weisen eine hohe Wärmekapazität auf [2,8].

3.2 Vorkommen

3.2.1 Industrielle Herstellung und Verwendung

Im Jahr 1929 wurden PCT sowie PCB erstmalig von der Firma Monsanto in den USA produziert. Zwischen 1955 und 1980 wurden ca. 60.000 t PCT weltweit industriell hergestellt, wobei es sich um technische Mischungen mit unterschiedlichen Chlorsubstitutionsgraden handelte, die auch PCB enthielten (0,5 bis 10% [8]). Sie wurden durch eine direkte Chlorierung der unsubstituierten ortho-, meta- und para-Terphenyle erhalten. Damit war die Gesamtproduktionsmenge 15 bis 20-fach geringer als die der PCB. Aufgrund ihrer Eigenschaften (Kapitel 3.1) wurden sie in sogenannten offenen Systemen eingesetzt, wie z.B. als Weichmacher in synthetischen Harzen, als Schmier- und Dichtungsmittel. Des Weiteren wurden sie als Papierbeschichtung, in Druckerpatronen oder als Isolier- und Flammenschutzbeschichtungen sowie in Anstrichen verwendet [2]. In Tabelle 2 sind alle Hersteller und Produktnamen aufgelistet. Nach Bekanntwerden der schädlichen Wirkung von PCB, wurde auch die Produktion der PCT eingestellt [2,9].

Tabelle 2: Hersteller und Produktnamen von PCT [2,9]

Hersteller	Land	Produktname	Herstellung bis
Monsanto	USA	Aroclor 5432, 5442, 5460*	1972
Kanegafuchi	Japan	Kanechlor C	k.A.
Mitsubishi-Monsanto	Japan	Aroclor series	k.A.
Bayer	Deutschland	Leromoll 112-90, Clophen-Harz W	1974
Caffaro	Italien	Cloresil A, B und 100	1975
Prodelec	Frankreich	Phenoclor, Electrophenyl T-60	1980

* die letzten beiden Zahlen geben den Chlorgehalt in Prozent an
k.A. : keine Angaben

Des Weiteren konnte bereits nachgewiesen werden, dass PCT als Nebenprodukt bei industriellen chemischen Prozessen, wie z.B. der Kupfer-katalysierten Herstellung

3 Polychlorierte Terphenyle

von Vinylchlorid, gebildet werden [6]. Es kann davon ausgegangen werden, dass aus den oben genannten früheren Anwendungsfeldern PCT kontinuierlich in die Umwelt gelangen. Somit stellen auch Abfalldeponien eine potentielle Sekundärquelle dar.

3.2.2 Entstehung bei Verbrennungsprozessen

Verbrennungsprozesse laufen in der Regel nicht vollständig ab. Auch bei „idealen“ Bedingungen werden nur maximal 99,9% des im Brennstoff enthaltenen Kohlenstoffs in Kohlenstoffdioxid umgewandelt. Aus den restlichen $\geq 0,1\%$ werden zahlreiche organische und anorganische Verbindungen gebildet [10]. Die bei einer Verbrennung stattfindenden Reaktionsabläufe hängen von einer Vielzahl von Faktoren ab. Beispielsweise sind die Temperatur, das Sauerstoffangebot und das Vorhandensein von Katalysatoren (z.B. Kupfer) entscheidende Parameter für die Bildung bestimmter Verbrennungsprodukte. Zu diesen Verbindungen zählen u.a. PCDD/F, PCB und PAK. Es wird davon ausgegangen, dass zwei Bildungstypen für die Entstehung von PCDD/F entscheidend sind – die *de-novo*-Synthese und die Synthese durch Präkursoren (Vorläuferverbindungen). Bei der *de-novo*-Synthese werden die Verbindungen aus Grundbausteinen wie Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff und Chlor gebildet. Mögliche Chlorquellen können zum Beispiel chlorhaltiger Kunststoff wie Polyvinylchlorid oder auch einfaches Kochsalz sein. Wird von einer Synthese durch Präkursoren gesprochen, so sind im Brennstoff Vorläuferverbindungen, wie chlorierte Phenole, Benzole, Biphenyle oder Diphenylether, vorhanden, aus denen z.B. PCT oder PCDD/F entstehen können. Beide Bildungsmechanismen können sowohl in der Gasphase als auch oberflächenkatalysiert, z.B. auf Flugasche oder Metallen, stattfinden. Oberflächenkatalysierte Reaktionen finden begünstigt bei niedrigen Temperaturen (bei PCDD/F: ca. 250 – 450 °C) statt. Die Zersetzungsraten steigen oberhalb von ca. 450 °C bis 500 °C an [3,11–17]. Abbildung 2 zeigt, wie u.a. PCDD/F, PCB und PAK bei Verbrennungen und Pyrolysen gebildet werden können.

3 Polychlorierte Terphenyle

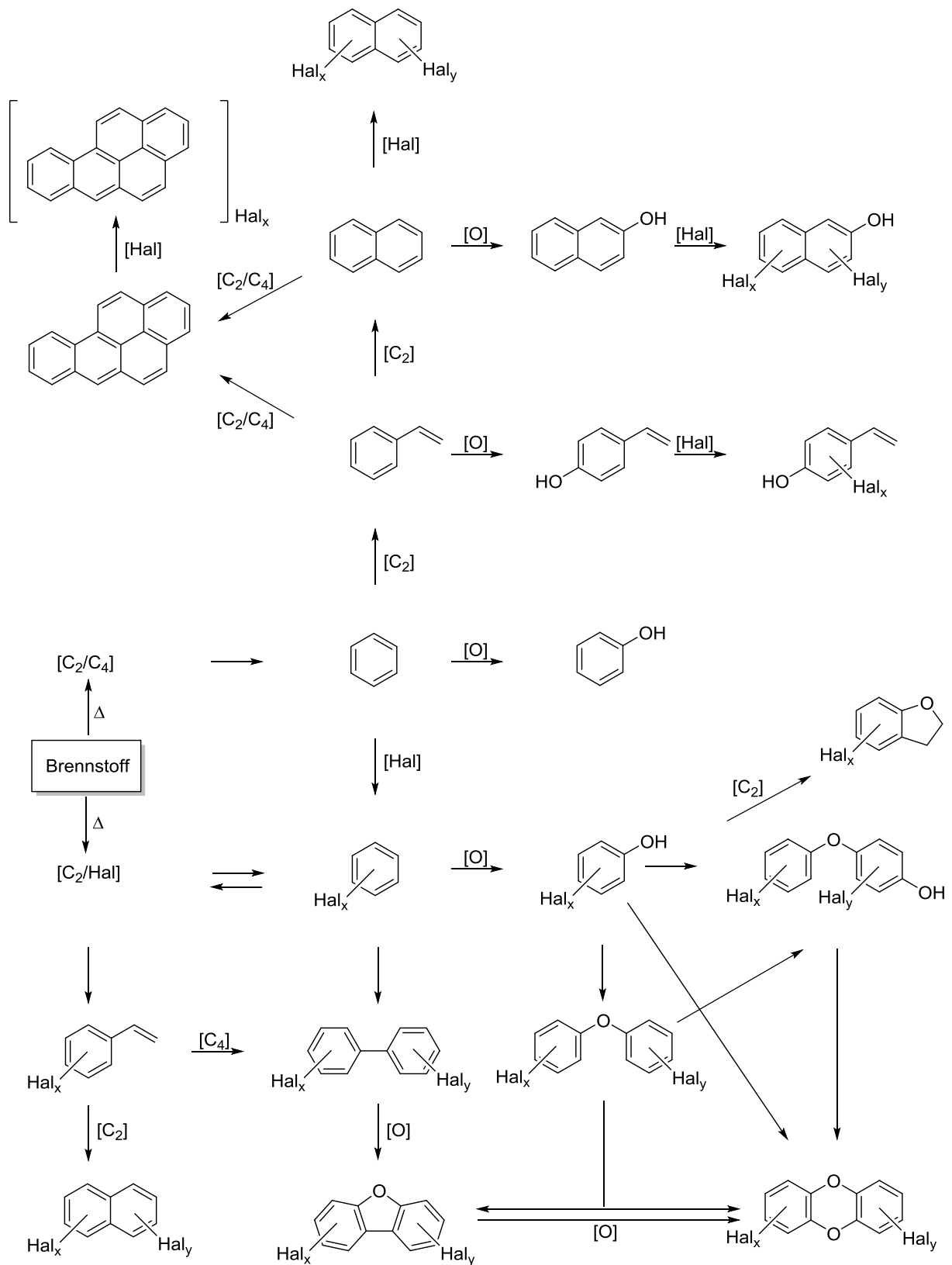


Abbildung 2: Bildung von aromatischen Verbindungen bei Verbrennungsprozessen [3], (modifiziert)

3 Polychlorierte Terphenyle

Es wird davon ausgegangen, dass PCT genau unter den gleichen Bedingungen wie PCDD/F, PCB und PAK als thermodynamisch stabile, chlorierte Verbindungen kontinuierlich bei Verbrennungsprozessen gebildet und freigesetzt werden. Erste experimentelle Bestätigungen hierfür wurden bereits publiziert [4,5].

3.3 Umweltverhalten und Toxikologie

Die PCT werden aufgrund ihrer Chlorierung biologisch kaum abgebaut [2]. Jedoch sind stufenweise Dechlorierungen durch UV-Strahlung möglich, so wie sie bei PCDD oder PCB beobachtet wurden [18,19]. Sie sind persistent und können sich, trotz ihrer Schwerflüchtigkeit, partikelgebunden ubiquitär in der Umwelt verteilen [20]. Daher wurden sie in vielen Umweltkompartimenten bereits nachgewiesen. Aufgrund der fehlenden einheitlichen Analytik für PCT wird an dieser Stelle auf quantitative Angaben verzichtet und es werden nur qualitative Aussagen getroffen (Kapitel 3.5). So wurden bei Untersuchungen von Böden und Sedimenten in den USA, Deutschland, Japan, Spanien und in der Antarktis PCT gefunden [9,21–29]. Klärschlämme und Wasserproben waren ebenfalls kontaminiert [9,28,30]. Außerdem wiesen Stäube aus Innenräumen [31] sowie Pappen und Lebensmittelverpackungen PCT auf [32]. Bei neueren Untersuchungen von Stäuben aus einer Elektronikschrottreyclinganlage in Kanada wurden gleichermaßen PCT detektiert [33].

Die Belastung durch PCT in der Tierwelt konnte ebenfalls in einigen Studien nachgewiesen werden. Marine Lebewesen wie Fische [30,34–38], Krusten- und Schalentiere [21,30,34,37,39], Robben, Delphine und Weißwale [36,40] sind genauso betroffen wie die terrestrischen Vertreter Vögel [38,40–43], Hunde oder Katzen [38,44–46]. Daraus lässt sich schließen, dass der Mensch ebenfalls mit PCT belastet sein kann. Untersuchungen u.a. in Japan und den Niederlanden haben diese Annahme bestätigt. Es wurden PCT Konzentrationen im menschlichen Gewebe, Fett, Blut sowie Muttermilch nachgewiesen [30,38,47,48]. Aufgrund der Ähnlichkeit zu den PCB könnte Fischkonsum der Hauptexpositionsweg der PCT beim Menschen sein [49].

Dass PCT ein hohes Bioakkumulationspotential aufweisen, zeigen Laborexperimente mit Fischen, Hühnern, Ratten und Mäusen, die mit technischen PCT-Mischungen (z.B. Aroclor 5460, Kanechlor C) über einen definierten Zeitraum gefüttert wurden. Hierbei wurde festgestellt, dass sich höherchlorierte PCT bevorzugt in der Leber und im Fettgewebe anreichern [50–53]. Eine Konzentrationszunahme innerhalb der

3 Polychlorierte Terphenyle

marinen Nahrungskette vom Aal zum Seeadler und zur Robbe konnte bereits bei Untersuchungen in der Ostsee beobachtet werden [40].

Aufgrund mangelnder Verfügbarkeit von Referenzsubstanzen sind bisher nur wenige Studien zur akuten und chronischen Toxizität der PCT veröffentlicht worden. In Untersuchungen mit Aroclor-Mischungen an Ratten und Hasen wurden die in Tabelle 3 dargestellten mittleren letalen Dosen ermittelt.

Tabelle 3: LD₅₀-Werte von Aroclor-Mischungen [54]

	Aroclor 5442^a	Aroclor 5460^b
LD₅₀ oral (Ratte) [mg/kg KG]	10600	19200
LD₅₀ dermal (Hase) [mg/kg KG]	1260	7790

^a 50%ige Lösung in Maiskeimöl

^b 33,3%ige Lösung in Maiskeimöl

Männliche Rhesusaffen, die mit Aroclor 5460 über einen Zeitraum von 3 Monaten gefüttert wurden, litten an subkutanen Ödemen an Augen und Lippen, verloren Haare am Kopf, Nacken und Rücken, zeigten eine Gewichtsabnahme bei gleichzeitiger Zunahme des Lebergewichts und wiesen veränderte Magenwände und Magenschleimhäute auf [55]. Bei Mäusen, die über sechs Monate mit Kanechlor C gefüttert worden waren, wurden Leberzellkarzinome, kugelförmige Vergrößerungen an der Leber sowie Lebertumore festgestellt [56]. PCT greifen bevorzugt in der Leber an, sie induzieren dort das microsomale Enzymsystem, wodurch die Lebensdauer des glatten endoplasmatischen Reticulums verlängert, der Proteingehalt der Lebermikrosomen erhöht und die Membranstruktur geschwächt werden [51,55]. Der Einfluss auf die Fortpflanzung wurde bei Hühnern durch Fütterungsexperimente mit Aroclor 5442 untersucht. Die Testergebnisse zeigten, dass die Rate an toten und abnormalen Hühnerembryos durch die Gabe von PCT stieg [57]. Ebenfalls wurden nachteilige Effekte bei der In vitro Fertilisation (IVF; „Befruchtung im Glas“) bei Mäusen festgestellt. Es wurde ein Anstieg an abnormalen Embryos und Eizellen-Deformationen beobachtet [58]. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass bei PCT ähnliche Struktur-Aktivitätsbeziehungen und die damit verbundenen toxikologischen Wirkungen bestehen, wie sie von den PCB und den PCDD/PCDF bekannt sind [2]. PCB und PCDD/F, die eine coplanare Konformation einnehmen, sind in der Lage an den Aryl-Hydrocarbon-Rezeptor (AhR) zu binden. In Abbildung 3 ist der Mechanismus der AhR vermittelten Genexpression dargestellt [1].

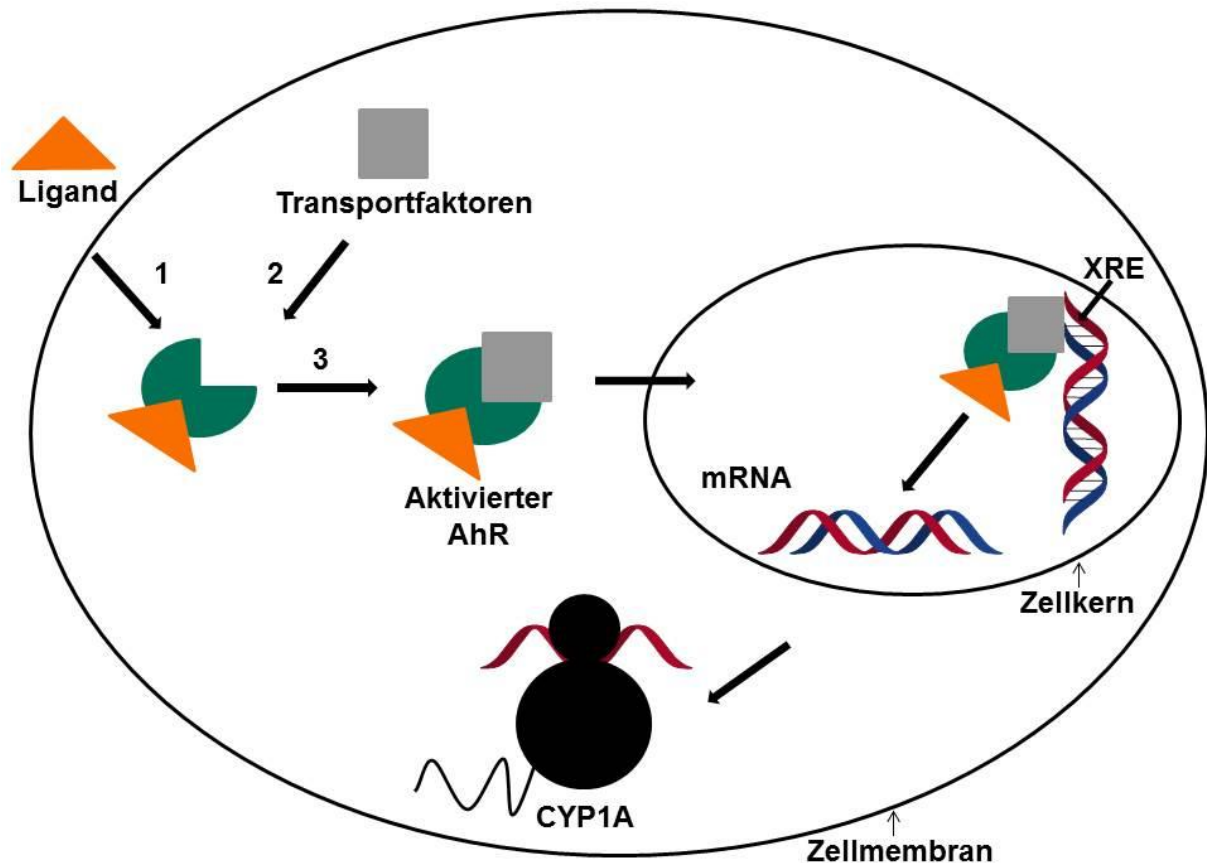


Abbildung 3: Mechanismus der AhR vermittelten Genexpression [1], (modifiziert)

Ohne Ligand liegt der Ah Rezeptor im Cytosol in einem Multiproteinkomplex vor. Bindet ein Ligand (wie z.B. TCDD) an den Rezeptor, so ändert sich seine Konformation und es erfolgt der Transport in den Zellkern. Dort bindet der AhR an spezifische DNA-Erkennungssequenzen, sogenannte „xenobiotic response elements“ (XRE), wodurch eine Expression verschiedener Gene ausgelöst wird. Transkribierte mRNAs gelangen ins Cytosol. Es kommt zur Bildung verschiedener Proteine, darunter befinden sich auch die bedeutsamen Cytochrom P 450 abhängigen Monooxygenasen (z.B. CYP1A1). Daraus resultieren weitere biologische Veränderungen, wie z.B. eine Störung des Steroidstoffwechsels oder eine Modulation des Schilddrüsenhaushaltes. Der AhR ist bei Menschen, Säugetieren, Reptilien, Amphibien und Fischen vorhanden. Nur bei Wirbellosen konnte dieser Rezeptor nicht nachgewiesen werden [1,59]. Untersuchungen mit Ratten, die durch Fütterung oder Injektion Aroclor 5460 oder 5432 ausgesetzt waren, zeigten einen Anstieg des Cytochrom P-450 Levels, Benzo[a]pyren-Hydrolase (AHH-Aktivität) und Ethoxyresorufin-O-Deethylase-Aktivität (EROD) [60–62].

3 Polychlorierte Terphenyle

Da Aroclor-Mischungen mit PCB verunreinigt sein können, konnte bisher nicht geklärt werden, ob die Beobachtungen, Effekte, Letalität etc. auf den PCB oder den PCT beruhen. Daher sind zukünftig Untersuchungen mit PCT Reinsubstanzen zwingend erforderlich.

3.4 Thermolyseverhalten

Im IÖNC wurde im Rahmen eines DFG-geförderten Projektes das Thermolyseverhalten der PCT untersucht. Hierfür wurden Experimente mit den in Tabelle 4 aufgeführten Kongeneren in einem Verbrennungsofen mit Luft bei 600 °C sowie in geschlossenen Quarzglasampullen im Muffelofen bei 450 °C durchgeführt und die Thermolyseprodukte mittels GC/MS analysiert. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte vorwiegend durch die Interpretation der Massenspektren. Aufgrund von mangelnder Verfügbarkeit konnten die Ergebnisse nicht mit Referenzsubstanzen abgesichert werden [63,64].

Tabelle 4: PCT-Kongeneren der Thermolyseexperimente

4-Chlor- <i>p</i> -terphenyl ⁺	2,2'',4,4''-Tetrachlor- <i>p</i> -terphenyl*
2,5-Dichlor- <i>o</i> -terphenyl ⁺	3,3'',5,5''-Tetrachlor- <i>m</i> -terphenyl*
2,5-Dichlor- <i>p</i> -terphenyl ⁺	3,3'',5,5''-Tetrachlor- <i>p</i> -terphenyl*
2,4,6-Trichlor- <i>p</i> -terphenyl ⁺	2,3,4,5,6-Pentachlor- <i>p</i> -terphenyl ⁺
2,4,4'',6-Tetrachlor- <i>p</i> -terphenyl ⁺	2',3,3'',5,5''-Pentachlor- <i>p</i> -terphenyl*
2,3,5,6-Tetrachlor- <i>p</i> -terphenyl ⁺	Tetradecachlor- <i>m</i> - und - <i>p</i> -terphenyl ⁺

⁺ kommerziell verfügbar

* im IÖNC, wie in Kapitel 3.6.1 beschrieben, synthetisiert

Durch Dechlorierung, Abspaltung von Phenylringen, Um- und Höherchlorierung entstanden Chlorbenzole, PCB, niedriger und höher chlorierte PCT und höchstwahrscheinlich polychlorierte Dibenzofuranphenyle und Benzobisbenzofurane, wobei die sauerstoffhaltigen Produkte in geringen Mengen gebildet wurden. Hierbei wurden Umsetzungsraten von 60% bei Pentachlor- und 9% bei Monochlor-*p*-terphenyl erzielt. Beim Vergleich von zwei PCT mit gleichem Chlorsubstitutionsmuster, aber unterschiedlicher Grundstruktur (3,3'',5,5''-Tetrachlor-*m*-terphenyl vs. 3,3'',5,5''-Tetrachlor-*p*-terphenyl) wurde festgestellt, dass das *m*-PCT eine niedrigere Umsetzungsrate aufwies und somit stabiler war als das *p*-PCT (*m*: 20%, *p*: 49%). Bei 3,3'',5,5''-Tetrachlor-*p*-terphenyl und 2,2'',4,4''-Tetrachlor-*p*-terphenyl wurden Hinweise gefun-

3 Polychlorierte Terphenyle

den, dass polychlorierte Quaterphenyle (PCQ) bei den Experimenten gebildet worden waren. Durch Cyclisierungen entstanden zudem bei der thermischen Behandlung von 2,5-Dichlor-*o*-terphenyl unter HCl-Abspaltung Monochlortriphenylen und Triphenylen. In Abbildung 4 sind beispielhaft die möglichen sauerstoffhaltigen Thermolyseprodukte von 2',3,3'',5,5''-Pentachlor-*p*-terphenyl aufgeführt.

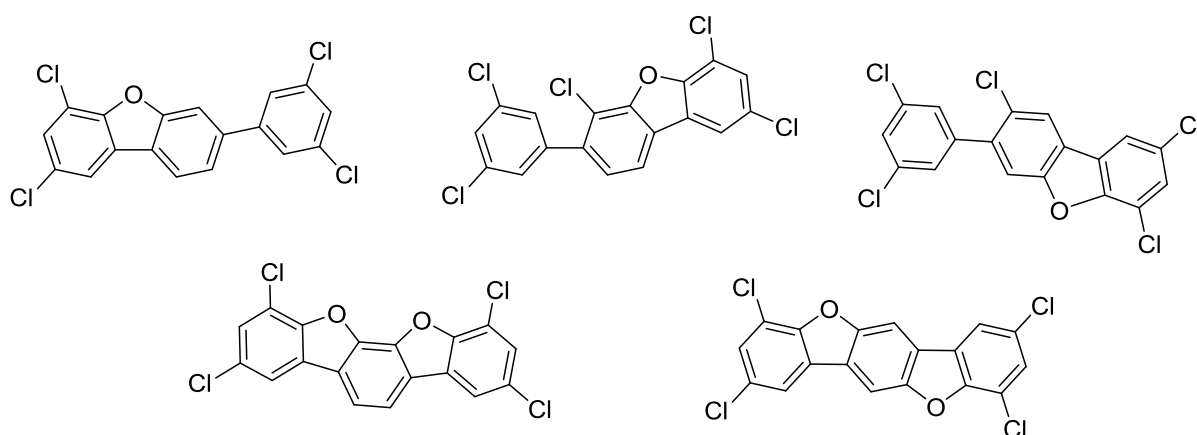


Abbildung 4: Sauerstoffhaltige Thermolyseprodukte von 2',3,3'',5,5''-Pentachlor-*p*-terphenyl (Verbrennungsofen, 600 °C)

obere Reihe: polychlorierte Dibenzofuranphenyle

untere Reihe: polychlorierte Benzobisbenzofurane [63]

Die Ergebnisse der Thermolyseexperimente zeigen, dass PCT bei thermischer Belastung analoge Reaktionen aufweisen, wie sie bereits bei den PCB bekannt sind [63,64].

3.5 Analytik

Eine präzise PCT-Analytik war aufgrund fehlender Referenzsubstanzen bis dato nicht möglich, weshalb es auch noch keine allgemein anerkannte Analysenmethode gibt. Anfang der 1970er bis Ende der 1990er wurden überwiegend die technischen Mischungen (Tabelle 2, Kapitel 3.2.1) als Referenz genutzt und diese sowie die Umweltproben mittels GC/ECD untersucht [9,20,22,23,25,28,32,38,40,41,44,48–52,57]. Einige Arbeitsgruppen verwendeten auch GC/MS, anfänglich noch mit gepackten Säulen, später mit den weiter entwickelten Kapillarsäulen [20,24,25,27,30,31,37,47,49,65]. Santos et al. untersuchten 1996 zudem Proben mittels Tandem-Massenspektrometrie (MS/MS) [37]. Jedoch sind die wenigen bisher publizierten Analysenergebnisse mit Vorsicht zu bewerten. Aufgrund mangelhafter Überlappun-

3 Polychlorierte Terphenyle

gen der Peakmuster zwischen den technischen Gemischen und den Proben (Abbildung 5) muss bei quantitativen Angaben mit Fehlerabweichungen um 500% gerechnet werden [27]. Daher sind quantitative Vergleiche zwischen verschiedenen Studien nahezu unmöglich [9].

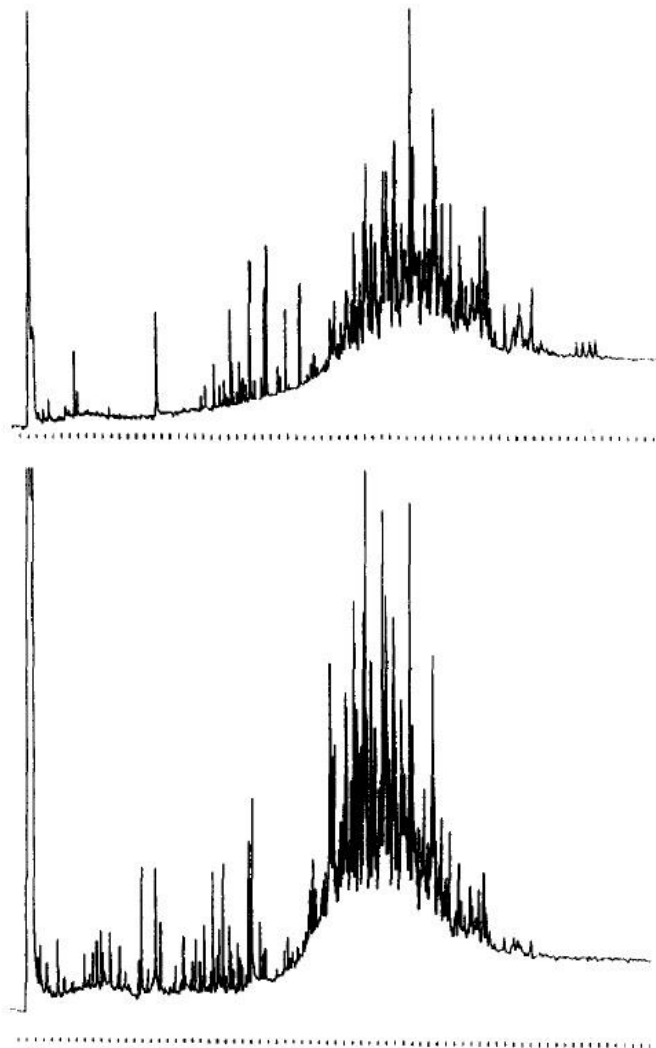


Abbildung 5: GC-Chromatogramm von Aroclor 5460 (oben) vs. GC-Chromatogramm von einer Thunfisch-Probe (unten) [49]

Seit 2008 sind neue Ansätze in der Literatur zu finden, die sich die Weiterentwicklungen der Messtechniken und deren verschiedene Kombinationsmöglichkeiten zu Nutze machen. Hier kommen u.a. zweidimensionale Gaschromatographie (GCxGC) [33,66,67] oder hochauflösende Massenspektrometrie (HRMS) [33,35] zum Einsatz. Des Weiteren wurden verschiedene Analysatoren in der Massenspektrometrie getes-

3 Polychlorierte Terphenyle

tet, wie z.B. Flugzeit-Massenspektrometrie (TOF-MS, engl. Time-of-flight mass spectrometry) [29,33], Multiphotonen-Ionisations-Massenspektrometrie (MUPI-MS) [29] oder Ionenfallen-Massenspektrometrie (IT-MS, engl. ion trap) [26]. Rosenfelder und Vetter erstellten einen mathematischen Berechnungsalgorithmus, mit dem sie Störungen durch PCB bei GC/NCI-MS-SIM-Analysen (NCI: Negative chemische Ionisation) sowie GC/EI-MS-Analysen (EI: Elektronenstoßionisation) von Umweltproben eliminieren. Dadurch konnten sie bei der Untersuchung von marinen Säugetieren und Fischen 97 unterschiedliche PCT Kongenere detektieren. Die Konzentration dieser PCT berechneten sie als Summe in Relation zu PCB 153, das als kommerzieller Standard erhältlich ist [36,68,69]. Jedoch führten auch die neuen Ansätze aufgrund fehlender PCT-Referenzstandards überwiegend zu qualitativen Betrachtungen. Genormte Analysenverfahren für andere Analyte sehen jedoch stets den Einsatz von Standardsubstanzen vor. In der DIN EN 15308 wird die Analyse von PCB in kontaminiertem Abfall beschrieben. Hier werden 7 sogenannte Indikatorkongenere (PCB 28, 52, 101, 118, 138, 153 und 181; Nomenklatur nach Ballschmiter und Zell [70]) stellvertretend für insgesamt 209 PCB-Kongenere betrachtet [71]. Die Gruppe der PCDD/F besteht aus insgesamt 210 Kongeneren (75 Dioxine, 135 Furane), wovon in der Regel nur die 17 toxikologisch relevanten, die 2,3,7,8-substituierten Kongenere, analysiert werden (7 Dioxine, 10 Furane). Bei den PCB gibt es 12 Kongenere, die in ihrer räumlichen Struktur den PCDD/F ähneln und daher als dioxinähnliche PCB (dl-PCB, engl. dioxin-like PCB) bezeichnet und behandelt werden. Hierzu gehören die nicht ortho-substituierten Kongenere PCB 77, 81, 126, 169 sowie die mono ortho-substituierten Kongenere PCB 105, 114, 118, 123, 156, 157, 167, 189. Das toxischste dioxinähnlichste PCB ist 3,3',4,4',5-Pentachlorbiphenyl (PCB 126). Aufgrund der ähnlichen Toxizität werden PCDD/F und dl-PCB häufig gemeinsam analysiert, beispielsweise gemäß DIN EN 1948, in der Emissionen aus stationären Quellen betrachtet werden [72–75], oder gemäß DIN ISO 16000-14, die die Analyse von Innenraumluftverunreinigungen behandelt [76].

Genauso wird auch bei der Untersuchung PAK-belasteter Umweltproben vorgegangen. Die Gruppe der PAK besteht aus einer Vielzahl von Einzelsubstanzen. Die US-amerikanische Umweltschutzbehörde (United States Environmental Protection Agency, kurz USEPA) hat die folgenden 16 PAK mit in die Liste der „Priority Pollutants“ des US Clean Water Acts aufgenommen: Acenaphthen, Acenaphthylen, Anthracen, Benzo[a]anthracen, Benzo[a]pyren, Benzo[b]fluoranthren, Ben-

3 Polychlorierte Terphenyle

zo[g,h,i]perylen, Benzo[k]fluoranthren, Chrysen, Dibenzo[a,h]anthracen, Fluoranthren, Fluoren, Indeno[1,2,3-cd]pyren, Naphthalin, Phenanthren und Pyren. Sie wurden nach ihrer Toxizität, Nachweisbarkeit, Strukturvielfalt und Vorkommen in der Umwelt ausgewählt [77]. So werden auch nur diese 16 PAK stellvertretend für die gesamte Gruppe beispielsweise in der Boden- [78] und Wasseranalytik [79] untersucht.

In Anlehnung an diese Vorgehensweisen wurde im IÖNC das Konzept für ein exaktes und praxisgerechtes Analyseverfahren für die PCT entwickelt, welches exemplarisch getestet und 2010 veröffentlicht wurde [5]. Das Analyseschema ist in Abbildung 6 dargestellt. Es beinhaltet zum einen ein säulenchromatographisches Clean-Up der Probenextrakte, das nach dem Vorbild der PCDD/F-Analytik erarbeitet wurde [3,80]. Die Reinigung ist modular aufgebaut und besteht aus verschiedenen Adsorptionsmaterialien (Abbildung 6, rote Kästchen). Zum anderen sieht es den Einsatz von Indikatorkongeneren vor, die aufgrund ihres Substitutionsmusters leicht eine coplanare Konformation einnehmen können, d.h. dass sie nicht in ortho-Position substituiert sind. Einerseits kann davon ausgegangen werden, dass die coplanaren Verbindungen toxischer sind, als die nicht coplanaren Vertreter (Kapitel 3.3). Andererseits liegt hier der Ansatz zur Trennung von den übrigen PCT-Kongeneren. Denn nach dem Clean-Up kann eine mit Florisil gepackte Chromatographiesäule eingesetzt werden. Florisil ist ein Magnesiumsilicat, das aufgrund seiner Schichtstruktur in der Lage ist, planare Moleküle intrakavitär einzulagern und so von den nicht planaren Molekülen zu trennen [81]. Außerdem wurden nur die tetra- bis heptachlorierten Terphenyle berücksichtigt, da diese Kongenere toxikologisch wahrscheinlich am relevantesten sind, was von den Stoffgruppen der PCDD/F und PCB abgeleitet wurde. Daraus ergeben sich von den ursprünglich 8557 Kongeneren (Tabelle 1, Kapitel 3.1) nur noch insgesamt 29 Indikatorverbindungen, die nach diesem Clean-Up mit herkömmlicher GC/MS-Analytik gemessen werden können.

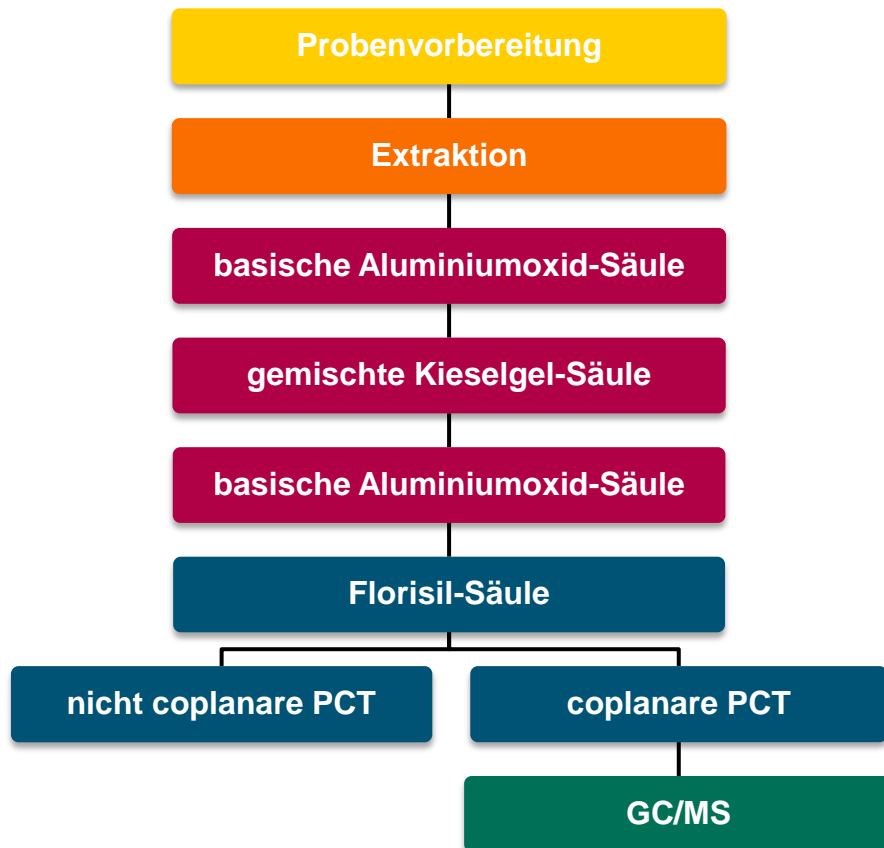


Abbildung 6: Schema zur Analytik der PCT (nach [81])

Im Rahmen einer Diplomarbeit am IÖNC [82] wurden die Diederwinkel der relevanten 29 PCT mit dem Programm Gaussian 09 (Revision A.02. GAUSSIAN Inc., Wallingford CT [83]) berechnet. Hierfür wurden zunächst die *m*- und *p*-Terphenyl-Grundgerüste mit dem Programm GaussView 5.0 gezeichnet und mit dem Basissatz BL3YP/6-311g(d) optimiert. Anschließend wurden die Grundgerüste mit Chloratomen substituiert und ebenfalls optimiert. Von den erhaltenen Strukturen wurden jeweils beide Diederwinkel berechnet, um später eine Korrelation zwischen der Planarität und der Florisil-Trennung aufstellen zu können. In der Tabelle 5 sind die Strukturen der 29 PCT mit den berechneten Winkeln eingetragen. Zudem sind sie nach folgendem Prinzip systematisch nummeriert [84]:

- aufgrund des im Durchschnitt kleineren Diederwinkels werden *p*-Terphenyle mit ansteigendem Chlorierungsgrad vor den *m*-Terphenylen berücksichtigt
- innerhalb eines Chlorierungsgrades wird die Nummerierung durch das Zählverfahren bestimmt (z.B. 3,3'',4,4'' vor 3,3'',4,5'')
- ist die numerische Ordnung identisch, so bestimmt die Substitution der Ringe die Nummerierung (z. B. 3,3'',4,5 vor 3,3'',4'',5)

3 Polychlorierte Terphenyle

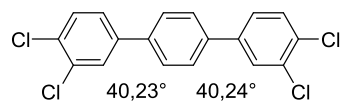
Tabelle 5: Die 29 PCT-Indikatorkongenere

Tetrachlorierte para-Terphenyle

PCT 1

3,3'',4,4''-Tetrachlor-*p*-terphenyl

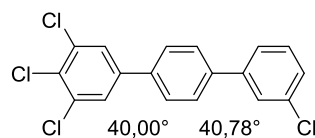
CAS --



PCT 2

3,3'',4,5- Tetrachlor-*p*-terphenyl

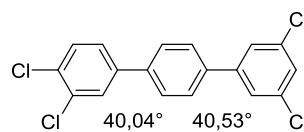
CAS --



PCT 3

3,3'',4,5''- Tetrachlor-*p*-terphenyl

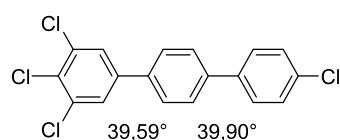
CAS --



PCT 4

3,4,4'',5- Tetrachlor-*p*-terphenyl

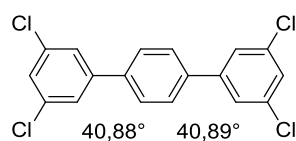
CAS 61576-95-2



PCT 5

3,3'',5,5''-Tetrachlor-*p*-terphenyl

CAS 500729-81-7

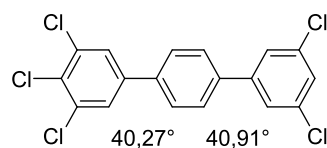


Pentachlorierte para-Terphenyle

PCT 6

3,3'',4,5,5''-Pentachlor-*p*-terphenyl

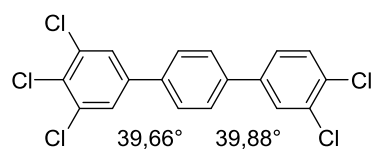
CAS --



PCT 7

3,3'',4,4'',5-Pentachlor-*p*-terphenyl

CAS --

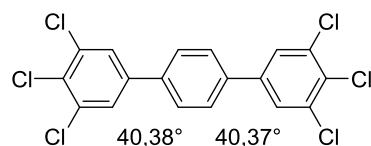


Hexachloriertes para-Terphenyl

PCT 8

3,3'',4,4'',5,5''-Hexachlor-*p*-terphenyl

CAS 1312994-27-6

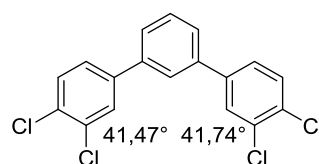


Tetrachlorierte meta-Terphenyle

PCT 9

3,3'',4,4''-Tetrachlor-*m*-terphenyl

CAS 1064187-49-0

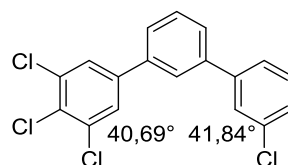


3 Polychlorierte Terphenyle

PCT 10

3,3'',4,5-Tetrachlor-*m*-terphenyl

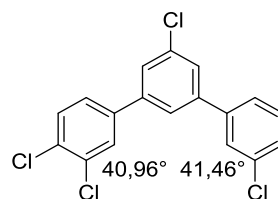
CAS --



PCT 11

3,3'',4,5'-Tetrachlor-*m*-terphenyl

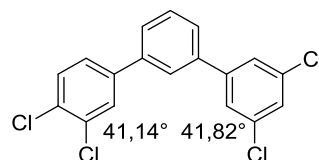
CAS --



PCT 12

3,3'',4,5''-Tetrachlor-*m*-terphenyl

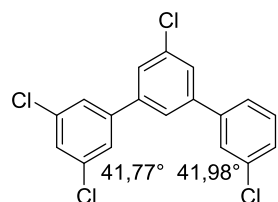
CAS --



PCT 13

3,3'',5,5'-Tetrachlor-*m*-terphenyl

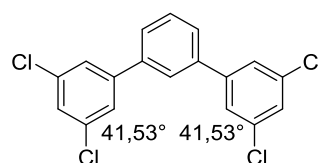
CAS --



PCT 14

3,3'',5,5''-Tetrachlor-*m*-terphenyl

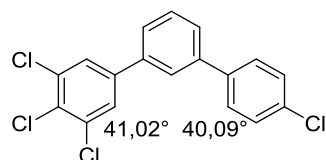
CAS 500729-84-0



PCT 15

3,4,4'',5-Tetrachlor-*m*-terphenyl

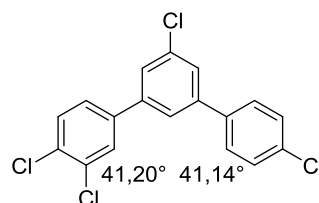
CAS --



PCT 16

3,4,4'',5'-Tetrachlor-*m*-terphenyl

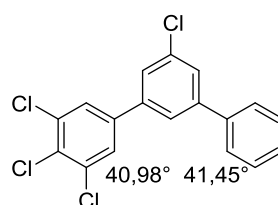
CAS --



PCT 17

3,4,5,5'-Tetrachlor-*m*-terphenyl

CAS --

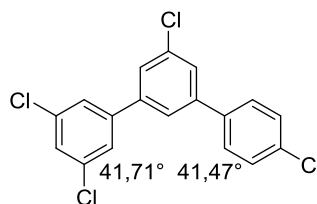


3 Polychlorierte Terphenyle

PCT 18

3,4'',5,5'-Tetrachlor-*m*-terphenyl

CAS --

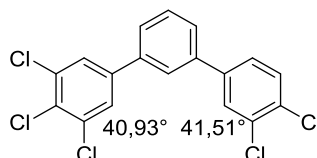


Pentachlorierte meta-Terphenyle

PCT 19

3,3'',4,4'',5-Pentachlor-*m*-terphenyl

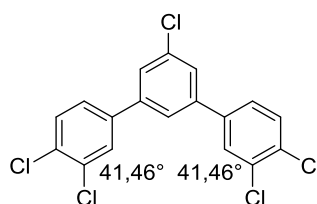
CAS --



PCT 20

3,3'',4,4'',5'-Pentachlor-*m*-terphenyl

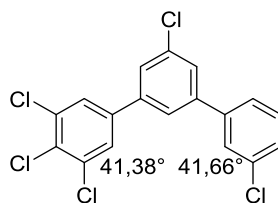
CAS 1064187-31-0



PCT 21

3,3'',4,5,5'-Pentachlor-*m*-terphenyl

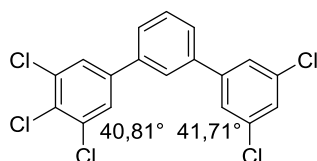
CAS --



PCT 22

3,3'',4,5,5''-Pentachlor-*m*-terphenyl

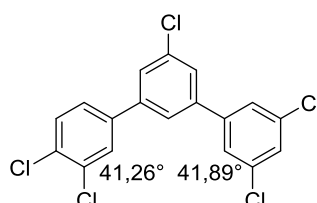
CAS --



PCT 23

3,3'',4,5',5''-Pentachlor-*m*-terphenyl

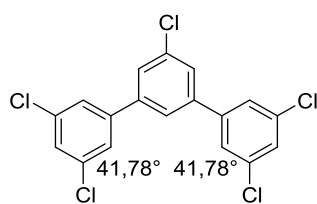
CAS --



PCT 24

3,3'',5,5',5''-Pentachlor-*m*-terphenyl

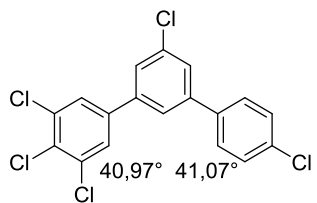
CAS --



PCT 25

3,4,4'',5,5'-Pentachlor-*m*-terphenyl

CAS --

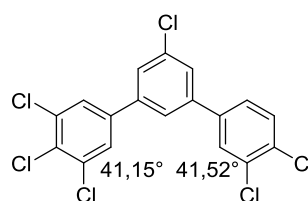


Hexachlorierte meta-Terphenyle

PCT 26

3,3'',4,4'',5,5'-Hexachlor-*m*-terphenyl

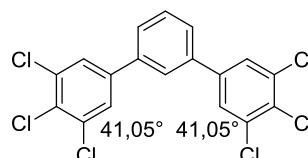
CAS --



PCT 27

3,3'',4,4'',5,5''-Hexachlor-*m*-terphenyl

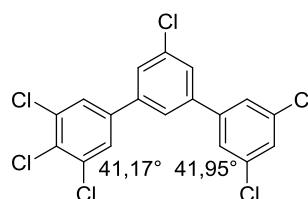
CAS --



PCT 28

3,3'',4,5,5',5''-Hexachlor-*m*-terphenyl

CAS --

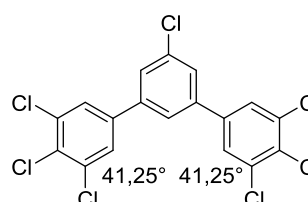


Heptachloriertes meta-Terphenyl

PCT 29

3,3'',4,4'',5,5',5''-Heptachlor-*m*-terphenyl

CAS --



Von den 29 PCT wurden zuvor 12 Verbindungen von den Arbeitskreisen Prof. Bahadir und Prof. Hopf an der TU Braunschweig mittels der in Kapitel 3.6.1 vorgestellten Strategie synthetisiert und charakterisiert (Tabelle 6, Kapitel 4.1) [5,84–86].

3.6 Synthesestrategien

Für die Entwicklung einer Analysenmethode sowie für toxikologische Untersuchungen sind PCT-Referenzstandards unerlässlich. Jedoch sind bis dato nur wenige Einzelverbindungen kommerziell verfügbar, weshalb eine Synthesestrategie entwickelt werden musste. Die direkte Chlorierung der unsubstituierten ortho-, meta- und para-Terphenyle ist nicht geeignet. Aufgrund der Regioselektivität sind bestimmte Positionen bei der Chlorierung bevorzugt, sodass Kongenere nicht gezielt synthetisiert werden können. Außerdem entstehen Kongenerengemische, die präparativ nicht ausreichend auftrennbar sind [85].

Einzelne PCB konnten nach Sandmeyer [87] und Cadogan [88] erfolgreich synthetisiert werden. Diese Reaktionen basieren auf einer Diazotierung von Aminobiphenylen. Neben schlechten Ausbeuten und der Bildung zahlreicher Nebenprodukte stellt

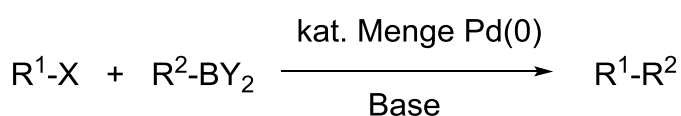
3 Polychlorierte Terphenyle

die teilweise fehlende Verfügbarkeit geeigneter Edukte einen weiteren Nachteil dar, sodass diese Methoden ebenfalls nicht zur Synthese von PCT in Frage kommen. Eine andere Strategie ist die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindungsknüpfung zwischen Phenylderivaten. Erste erfolgreiche Arbeiten auf diesem Gebiet wurden von Chittim et al. 1977 durchgeführt. Sie synthetisierten insgesamt 22 mono- bis pentachlorierte PCT-Kongenere über Azo-Kupplung eines Biphenylamins mit einem Chlorbenzol [89]. Diese Methode besitzt jedoch den Nachteil, dass große Mengen des Chlorbenzols eingesetzt werden müssen. Außerdem werden Produktgemische erhalten, die eine aufwendige Aufreinigung erfordern. Die Auswahl an möglichen Substitutionsmustern ist zudem begrenzt, was den Einsatz dieser Methode ebenfalls einschränkt [85]. Eine weitere Variante stellt die kupferkatalysierte Ullmann-Kupplung dar, mit der verschiedene substituierte Bi- und Terphenyle synthetisiert werden konnten [90]. Jedoch wurden auch hier ungenügende Ausbeuten erzielt, weshalb diese Synthesevariante ebenfalls ausscheidet.

In der modernen Synthesechemie werden vorrangig palladiumkatalysierte Kupplungen (Suzuki, Heck, Negishi, Stille etc.) zur C-C sowie C-Heteroatom Bindungsknüpfung eingesetzt. Lehmler und Robertson synthetisierten erfolgreich unter Einsatz der Suzuki-Kupplung gezielt PCB-Kongenere in sehr guten Ausbeuten und unter Bildung weniger Nebenprodukte [91]. Basierend auf dieser Arbeit wurde im IÖNC eine Syntheseroute für PCT mittels Suzuki-Kupplung entwickelt [85].

3.6.1 Suzuki-Kupplung

Die Suzuki-Kupplung ist eine intermolekulare Kreuzkupplung zwischen einem Aryl- oder Alkenylhalogenid (Elektrophil) und einer Organoboronverbindung (Nukleophil) mittels eines Palladium-Katalysators (meist: Tetrakis(triphenylphosphin)-Palladium(0), $\text{Pd(PPh}_3)_4$) in Anwesenheit einer Base (z.B. Natriumhydroxid oder -alkoxid) [92–94].



R^1 = Aryl, Alkenyl R^2 = Aryl, Alkenyl, Alkyl

X = I, Br, Cl, CF_3SO_2 Y_2 = Disiamyl, Catechol, Pinakol, $(\text{OH})_2$ und andere

Abbildung 7: Die Suzuki-Reaktion [94]

3 Polychlorierte Terphenyle

Die von A. Suzuki und N. Miyaura im Jahr 1979 entwickelte Methode zur C-C-Bindungsknüpfung bietet neben der großen Variation funktioneller Gruppen noch weitere Vorteile gegenüber den anderen oben genannten palladiumkatalysierten Kupplungen. Zum einen weisen die Borverbindungen eine geringe Toxizität auf und sind häufiger kommerziell verfügbar. Zum anderen ist die Reaktion unempfindlich gegenüber Luft und Wasser. Daher wird dieser Reaktionstyp häufig in der Naturstoffchemie und Arzneimittelsynthese eingesetzt [94]. A. Suzuki erhielt neben R. Heck und E. Negishi für seine wegweisenden Arbeiten im Jahr 2010 den Nobelpreis für Chemie.

In Abbildung 8 ist der Katalysezyklus anhand eines chlorierten Brombenzols und einer chlorierten Benzoldiboronsäure dargestellt.

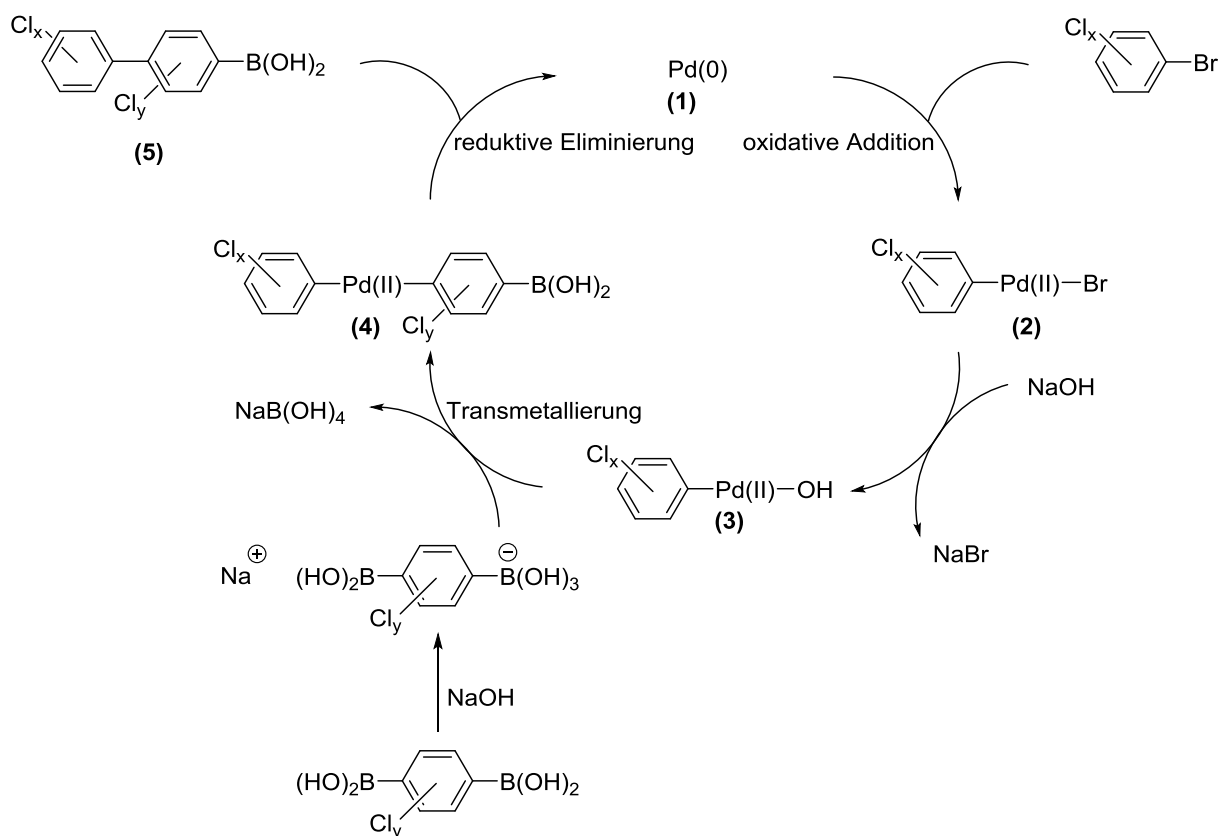


Abbildung 8: Katalysezyklus der Suzuki-Kupplung [93], (modifiziert)

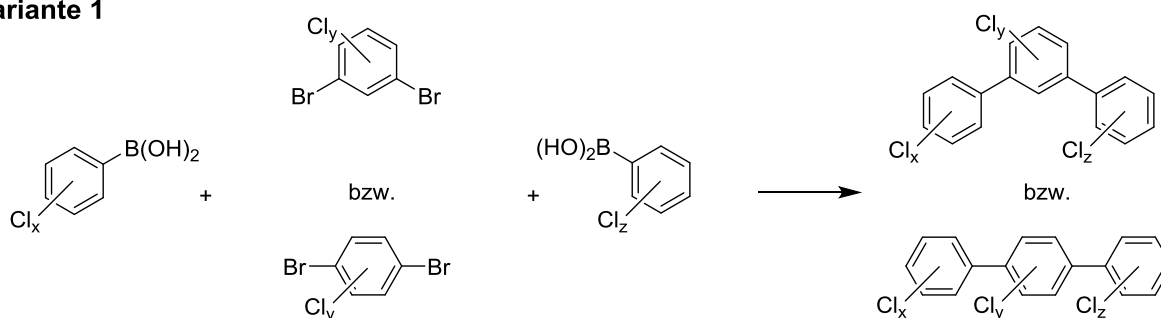
Wie in Abbildung 8 ersichtlich ist, findet im ersten Schritt eine oxidative Addition statt, indem das Palladium **(1)** in die Kohlenstoff-Brom-Bindung insertiert und sich die Oxidationszahl von 0 auf +2 erhöht. Danach reagiert das Organopalladium-Halogenid **(2)** durch die Zugabe von NaOH zum elektrophileren Organopalladium-Hydroxid **(3)**. Seine Pd-O-Bindung ist im Vergleich zur Pd-Br-Bindung noch polarer, sodass die

3 Polychlorierte Terphenyle

nachfolgende Transmetallierung zum Diarylpalladium-Komplex **(4)** erleichtert wird. Anschließend findet eine reduktive Eliminierung unter Bildung des Zielproduktes **(5)** und Regeneration des Katalysators **(1)** statt. Da das Zielprodukt **(5)** eine weitere Bor-säurefunktion hat, wird durch wiederholtes Durchlaufen des Mechanismus ein PCT erhalten.

Generell sind zwei Reaktionsvarianten möglich um ein PCT darzustellen (Abbildung 9). In der Variante 1 wird für den mittleren Ring des gewünschten PCT ein Dibrombenzol verwendet, welches mit zwei Äquivalenten Boronsäure umgesetzt wird. In der Variante 2 wird für den mittleren Ring eine Diboronsäure eingesetzt, die mit zwei Äquivalenten Brombenzol reagiert. Je nach gewünschtem Chlorierungsgrad und Substitutionsmuster der Zielverbindung werden die entsprechenden chlorierten Edukte ausgesucht und nach ihrer Verfügbarkeit die Syntheseroute ausgewählt.

Variante 1



Variante 2

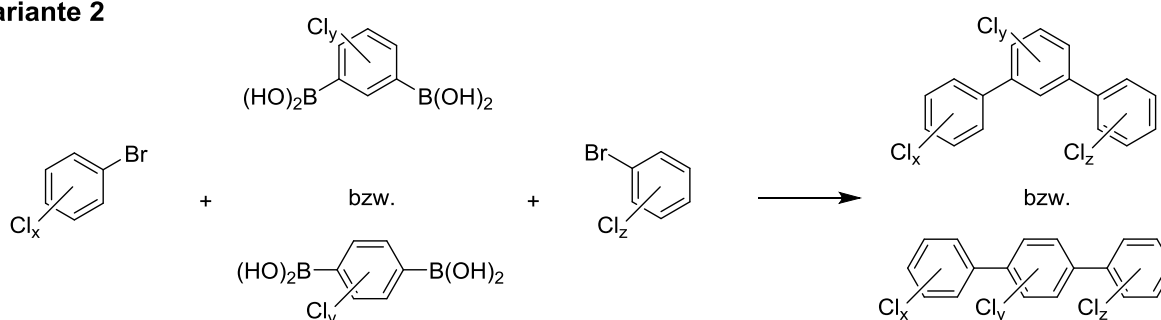


Abbildung 9: Syntheserouten zur Darstellung definierter PCT

Mit dieser Methode ist die Darstellung von symmetrischen und unsymmetrischen PCT möglich. Bei der Synthese symmetrischer PCT werden zwei Äquivalente der gleichen Boronsäure (Variante 1) bzw. des gleichen Brombenzols (Variante 2) eingesetzt. Zur Darstellung unsymmetrischer PCT werden jeweils unterschiedliche Boron-

3 Polychlorierte Terphenyle

säuren bzw. Brombenzole verwendet. Als Nebenprodukte entstehen PCB und niederchlorierte PCT. Außerdem werden bei der Synthese unsymmetrischer PCT die symmetrischen Kupplungspartner in einem Produktverhältnis von 1:2:1 gebildet (Abbildung 10).

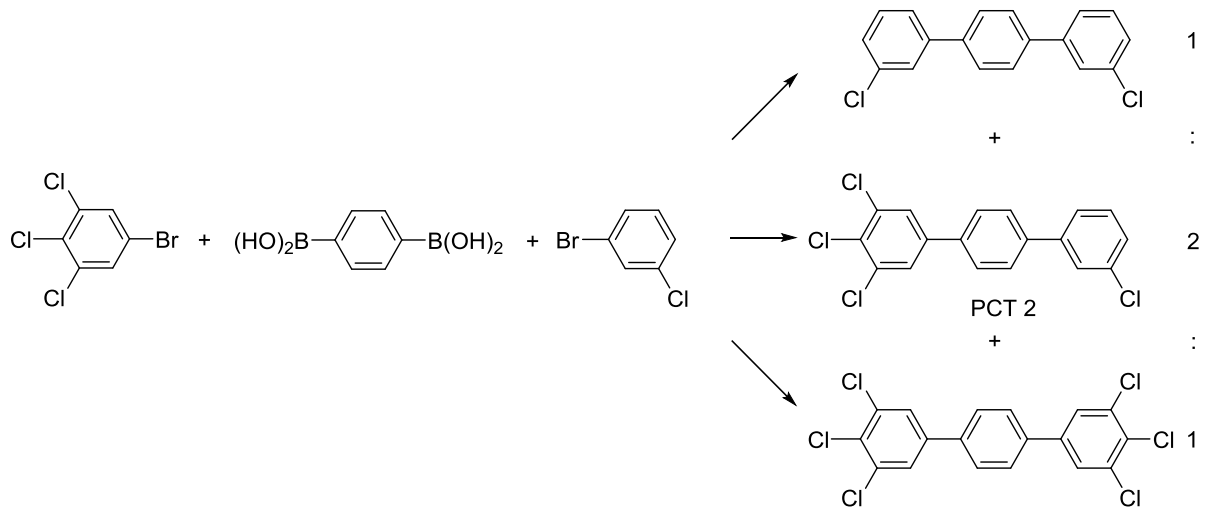


Abbildung 10: Produktbildung am Beispiel der Synthese des PCT 2

4 Material und Methoden

4.1 Synthese coplanarer PCT-Kongenere

Im IÖNC und im Arbeitskreis von Prof. Hopf der TU Braunschweig wurden bereits 12 der 29 relevanten PCT synthetisiert und deren spektroskopische Daten veröffentlicht (Tabelle 6). Die übrigen 17 PCT mussten synthetisiert werden. PCT 9, 12 und 20 standen nicht mehr zur Verfügung und waren ebenfalls zu synthetisieren.

Tabelle 6: Publikationsstatus der 29 PCT

PCT	Veröffentlichung	PCT	Veröffentlichung
1	Wichmann et al. 2010 [5]	16	
2		17	
3		18	
4	Bahadir et al. 2003 [85]	19	Wichmann et al. 2015 [84]
5		20	Hopf et al. 2007 [86]
6	Wichmann et al. 2015 [84]	21	
7	Wichmann et al. 2015 [84]	22	
8	Wichmann et al. 2010 [5]	23	
9	Hopf et al. 2007 [86]	24	Wichmann et al. 2015 [84]
10		25	
11		26	
12	Wichmann et al. 2015 [84]	27	Wichmann et al. 2015 [84]
13		28	
14	Bahadir et al. 2003 [85]	29	
15			

4.1.1 Verwendete Chemikalien

Tabelle 7: Verwendete Chemikalien

Substanz	Hersteller
Acetonitril, HPLC Grade, 99,9%	J.T. Baker, Niederlande
1,3-Benzoldiboronsäure, 97%	ABCR GmbH & Co. KG, Deutschland
1,4-Benzoldiboronsäure, $\geq 95\%$	Sigma Aldrich, Deutschland
1-Brom-3-chlorbenzol, 99%	Sigma Aldrich, Deutschland
1-Brom-4-chlorbenzol, 99%	Sigma Aldrich, Deutschland
1-Brom-3,4-dichlorbenzol, 98+%	Lancaster, England
1-Brom-3,5-dichlorbenzol, 97%	Lancaster, England
1-Brom-3,4,5-trichlorbenzol	IÖNC, TU Braunschweig, Deutschland
3-Chlorbenzolboronsäure, 97%	Alfa Aesar, Deutschland
4-Chlorbenzolboronsäure, 98%	ABCR GmbH & Co. KG, Deutschland
1-Chlor-3,5-dibrombenzol, 98%	Alfa Aesar, Deutschland
1,3-Dibrombenzol, 97%	Acros Organics, USA
3,4-Dichlorbenzolboronsäure, 97%	Alfa Aesar, Deutschland
3,5-Dichlorbenzolboronsäure, 98%	ABCR GmbH & Co. KG, Deutschland
3,4,5-Trichlorbenzolboronsäure, 95+%	Fluorochem, England
Benzolboronsäure, 98+%	Alfa Aesar, Deutschland
Dichlormethan, 99,6%, p.a.	VWR International, Frankreich
Diethylether, $\geq 99,5\%$, p.a.	Sigma Aldrich, Deutschland
Ethanol, 100%, p.a.	VWR International, Frankreich
Isooctan, $\geq 99\%$, Rotisolv®, HPLC	Carl Roth GmbH Deutschland
Kieselgel 60 (0,063 - 0,2 mm)	Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Deutschland
Natriumcarbonat (Na_2CO_3), $\geq 99,5\%$, p.a.	Carl Roth GmbH, Deutschland
Natriumhydroxid (NaOH), $\geq 99\%$, p.a.	Carl Roth GmbH, Deutschland
Natriumsulfat (Na_2SO_4), $> 99\%$, p.a.	Carl Roth GmbH, Deutschland
<i>n</i> -Hexan, 98,2%	VWR International, Frankreich
Tetrakis(triphenylphosphin)-	Chempur Feinchemikalien und
Palladium(0) ($\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$), 99%	Forschungsbedarf GmbH, Deutschland
Toluol, 99,7%, p.a.	Sigma Aldrich, Deutschland
Wasserstoffperoxid (H_2O_2), 30%, p.a.	Carl Roth GmbH, Deutschland

4.1.2 Allgemeine Synthesevorschrift

Die Synthesen erfolgten nach den in Abbildung 9 (Kapitel 3.6.1) dargestellten zwei Varianten. In einem 250 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler und Tropftrichter wurden 2,5 bzw. 5,0 mmol chlorierte Brombenzole und 3 mol% Pd(PPh₃)₄ in 25 mL Toluol unter Stickstoff als Schutzgas vorgelegt und mit 6 mL Na₂CO₃-Lösung (2 M) versetzt. Zu der Reaktionsmischung wurden über einen Tropftrichter 5 bzw. 2,5 mmol der entsprechenden Benzol(di)boronsäure/n gelöst in 25 mL Ethanol langsam hinzugegott und anschließend bei 80 °C für 16 h gerührt. Nachdem die Lösung auf Raumtemperatur abgekühlt war, wurden 1,5 mL H₂O₂ (30%) hinzugegeben und für weitere 3 h gerührt. Danach wurden 10 mL NaOH (2 M) und 30 mL Diethylether zugegeben, kräftig gerührt und die Reaktionsmischung in einen Scheidetrichter überführt. Die Phasen wurden getrennt und die wässrige Phase so lange mit Dichlormethan gewaschen, bis sich kein weißer Feststoff mehr in der wässrigen Phase absetzte. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na₂SO₄ getrocknet und die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wurde mittels GC/MS analysiert und anschließend säulenchromatographisch vorgereinigt (Tabelle 8). Für die gleichmäßige Überführung auf die Säule wurde das Rohprodukt im Rotationsverdampfer zuvor auf 15 g Kieselgel aufgebracht.

Tabelle 8: Parameter der Säulenchromatographie

Innendurchmesser Säule:	6 cm
Adsorbens:	Kieselgel
Einwaage Adsorbens:	250 g
Eluent:	<i>n</i> -Hexan/Dichlormethan (99:1)

Die Eluate wurden danach mittels GC/MS überprüft (Tabelle 13). Die erhaltenen PCT-Kongenerengemische wurden anschließend mit semipräparativer NP-HPLC (Tabelle 9) getrennt. Die Kongenerengemische aus den Synthesen für PCT 11, 12 und 16 wurden mittels präparativer RP-HPLC getrennt (Tabelle 10). Ziel war es, ca. 10 mg von jedem PCT zu erhalten.

4 Material und Methoden

Tabelle 9: HPLC-Parameter (NP-HPLC, semipräparativ)

Anlage:	Varian ProStar, USA
	Pumpe 210
	Autosampler 410
	UV/VIS-Detektor 325
Säule:	Agilent Polaris Si-5 A, 5 µm, 4,6 x 10 mm (Vorsäule)
	Agilent Polaris Si-5 A, 5 µm, 250 x 10 mm (Hauptsäule)
Eluent:	Isooctan
Trennmethode:	isokratisch
Flussrate:	3,5 mL/min
Injektionsvolumen:	100 µL
Temperatur:	25 °C
Detektor:	UV/VIS (254 nm)

Tabelle 10: HPLC-Parameter (RP-HPLC, präparativ)

Anlage:	PLC 2020, Gilson, USA
Säule:	Kromasil 100 C18, 7 µm, 50 x 20 mm (Vorsäule)
	Kromasil 100 C18, 7 µm, 250 x 21,2 mm (Hauptsäule)
Eluent:	Acetonitril/Wasser (90:10)
Methode:	isokratisch
Flussrate:	25 mL/min
Injektionsvolumen:	1000 µL
Temperatur:	25 °C
Detektor:	UV/VIS (254 nm)

In Tabelle 11 und Tabelle 12 sind die eingesetzten Edukte für die jeweiligen Zielverbindungen aufgelistet.

Tabelle 11: Edukte der Variante 1 (Abbildung 9)

PCT	C_x Benzolboronsäure	C_y Dibrombenzol	C_z Benzolboronsäure
9	3,4-Dichlor-	1,3-	3,4-Dichlor-
11	3,4-Dichlor-	1-Chlor-3,5-	3-Chlor-
12	3,4-Dichlor-	1,3-	3,5-Dichlor-
13	3,5-Dichlor-	1-Chlor-3,5-	4-Chlor-
16	3,4-Dichlor-	1-Chlor-3,5-	4-Chlor-
17	3,4,5-Trichlor-	1-Chlor-3,5-	Benzolboronsäure
18	3,5-Dichlor-	1-Chlor-3,5-	3-Chlor
20	3,4-Dichlor-	1-Chlor-3,5-	3,4-Dichlor-
21	3,4,5-Trichlor-	1-Chlor-3,5-	3-Chlor-
23	3,5-Dichlor-	1-Chlor-3,5-	3,4-Dichlor-
25	3,4,5-Trichlor-	1-Chlor-3,5-	4-Chlor-
26	3,4,5-Trichlor-	1-Chlor-3,5-	3,4-Dichlor-
28	3,4,5-Trichlor-	1-Chlor-3,5-	3,5-Dichlor-
29	3,4,5-Trichlor-	1-Chlor-3,5-	3,4,5-Trichlor-

Tabelle 12: Edukte der Variante 2 (Abbildung 9)

PCT	C_x Chlorbenzol	C_y Benzoldiboronsäure	C_z Chlorbenzol
2	1-Brom-3,4,5-tri-	1,4-	1-Brom-3-
3	1-Brom-3,5-di-	1,4-	1-Brom-3,4-di-
5	1-Brom-3,4,5-tri-	1,4-	1-Brom-4-
10	1-Brom-3,4,5-tri-	1,3-	1-Brom-3-
15	1-Brom-3,4,5-tri-	1,3-	1-Brom-4-
22	1-Brom-3,4,5-tri-	1,3-	1-Brom-3,5-di-

Die Produktreinheit wurde mittels GC/MS (Tabelle 13) überprüft und die jeweiligen Massenspektren der Substanzen ermittelt. Weitere Charakterisierungen fanden mittels NMR- (Tabelle 14) und ATR-FTIR-Spektroskopie (Tabelle 15) statt. Aufgrund der besseren Löslichkeit wurde anstatt des herkömmlichen Chloroforms das 1,1,2,2-Tetrachlorethan-D₂ + 0,03% Tetramethylsilan (99,5%, Deutero, Deutschland) als NMR-Lösungsmittel verwendet. Die experimentell erhaltenen IR-Spektren wurden mit berechneten IR-Spektren verglichen. Diese wurden im IÖNC im Rahmen der Diplom-

4 Material und Methoden

arbeit, in der die Diederwinkel berechnet wurden (Kapitel 3.5), parallel ermittelt [82]. Die Berechnungen basieren auf der Arbeit von Grunenberg et al., in der beispielhaft IR-Spektren einiger PCT mittels B3LYP/6-31G(d) force field in GAUSSIAN berechnet worden waren und ebenfalls mit experimentell bestimmten Gasphasen-IR-Spektren, erhalten durch Kopplung des IR-Spektrometers mit einem Gaschromatographen, verglichen wurden [95].

Tabelle 13: GC/MS Parameter

GC: GC System 6890 series; Agilent Technologies

Injektor:	splitless, 50 mL/min nach 2 min
Injektortemperatur:	280 °C
Injektionsvolumen:	1 µL
Säule:	DB-5 MS, 30 m; 0,25 mm Id.; 0,25 µm Filmdicke
Säulenfluss:	1 mL/min Helium, constant flow
Temperaturprogramm:	90 °C (2 min), 17 °C/min, 200 °C, 3,5 °C/min, 300 °C (20 min)

MS: 5975C Network Mass Selective Detector; Agilent Technologies

Transferline:	300 °C
Ionisation:	Elektronenstoß, 70 eV
Ionenquelle:	230 °C
Quadrupol:	150 °C
Modus:	SCAN
Massenbereich [m/z]:	45 – 550

Tabelle 14: NMR-Parameter

Spektrometer	Frequenzen
Bruker Avance II 600 (BioSpin, Deutschland)	600 MHz (¹ H), 151 MHz (¹³ C)
Bruker Avance III 400 (BioSpin, Deutschland)	400 MHz (¹ H), 101 MHz (¹³ C)

Tabelle 15: FTIR-Parameter

Spektrometer	Auflösung
Bruker Tensor 27 (Deutschland), Diamant-ATR	32

4.1.3 Herstellung der PCT-Referenzstandards

Aus den in Kapitel 4.1 synthetisierten und den bereits aus früheren Arbeiten vorhandenen PCT wurde je nach Löslichkeit und Verfügbarkeit die in Tabelle 16 aufgeführten Referenzstandards in Cyclohexan (99,99%, p.a. Fischer Scientific, England) hergestellt. Die Reinheit wurde mittels GC/MS-Messung bestimmt (Tabelle 13, Kapitel 4.1.2), indem der Referenzstandard auf Nebenkomponenten in einem Massenbereich von 45 bis 550 m/z im SCAN-Modus analysiert wurde.

Tabelle 16: Übersicht der 29 PCT-Referenzstandards

PCT	Referenzstandard	GC/MS-Reinheit	PCT	Referenzstandard	GC/MS-Reinheit
	[ng/μL]	[%]		[ng/μL]	[%]
1	400	95	16	400	100
2	400	100	17	200	100
3	100	100	18	400	100
4	400	100	19	400	100
5	100	100	20	400	100
6	400	94	21	400	100
7	200	100	22	200	100
8	400	99	23	200	100
9	400	100	24	400	95
10	200	100	25	400	100
11	400	100	26	400	100
12	200	100	27	400	97
13	400	100	28	400	100
14	400	100	29	400	100
15	200	100			

Aus den einzelnen Referenzstandards wurde ein 10 ng/μL Mischstandard in Cyclohexan hergestellt, aus dem 1000 pg/μL, 500 pg/μL und 100 pg/μL Mischstandards in Cyclohexan angesetzt wurden. Um mögliche Dechlorierungen aufgrund von UV-Licht und evaporierendes Lösungsmittel zu vermeiden, wurden alle Standards lichtgeschützt in Braunglasflaschen bei 5 °C gelagert.

4.1.3.1 Isotopenmarkierung der PCT-Referenzsubstanzen

In der PCDD/F-Analytik ist der Einsatz von isotopenmarkierten Referenzsubstanzen üblich, da hiermit eine Isotopenverdünnungsanalyse ermöglicht wird [74]. Diese Methode wäre auch für das PCT-Analyseverfahren denkbar. Eine Möglichkeit ist die ^{13}C -Markierung des Phenylgerüsts der PCT. Jedoch wäre das nachträglich nicht möglich, sodass komplexe Synthesen nötig gewesen wären. Praktikabler erschien die nachträgliche Isotopenmarkierung der PCT-Kongenere durch Deuterierung. Folgende Vorgehensweisen werden beim H/D Austausch unterschieden [96]:

1. pH-Wert-abhängiger H/D Austausch
 - a) ohne Zusatz von Säure oder Base
 - b) säurekatalysiert
 - c) basenkatalysiert
2. metallkatalysierter H/D Austausch
 - a) homogen
 - b) heterogen

Erste Versuche hierzu wurden mit der Mikrowelle Synthos 3000 von Anton Paar (1400 W, Rotor XQ80) durchgeführt. Als Testsubstanz wurde 2,2'',5,5''-Tetra-*p*-terphenyl verwendet, das in einer früheren Arbeit im IÖNC synthetisiert wurde.

Deuterierungsversuch Nr.1

Es wurden in zweifacher Ausführung jeweils 1 mg der PCT-Testsubstanz in 5 mL Dichlormethan (DCM, 99,6%, p.a., VWR International, Frankreich) gelöst und auf 1 g Kieselgel (60, 0,063 - 0,2 mm, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Deutschland) präadsorbiert. Nach Überführung in die Mikrowellengefäße wurde das Kieselgel mit 6 mL deuterierten Wasser (D_2O , 99,95%, Deutero, Deutschland) überschichtet. Anschließend wurden die Reaktionsgemische mit 10 °C/min auf 150 °C mittels der Mikrowelle erhitzt. Nach 20 min wurde der Abkühlprozess mit einer Dauer von 15 min eingeleitet. Die beiden Mikrowellengefäße wurden mit 20 mL DCM ausgespült und durch einen Faltenfilter in einen Scheidetrichter überführt. Anschließend wurde die DCM-Phase abgenommen und über Na_2SO_4 getrocknet. Ein Aliquot von 0,5 mL wurde abgenommen, mit 1 mL DCM verdünnt und mittels GC/MS (Tabelle 13, Kapitel 4.1.2) gemessen.

Deuterierungsversuch Nr. 2

In vier Mikrowellengefäße mit Magnetrührstäbchen wurde jeweils 1 g Kieselgel vorgelegt. In jeweils zwei Gefäße wurde 1 mg der PCT-Testsubstanz gelöst in 1 mL Dichlormethan-D2 (99,6%, Deutero, Deutschland) sowie gelöst in 1 mL Aceton-D6 (99,35%, Acros Organics, USA) hinzugefügt und anschließend mit 6 mL D₂O (99,95%, Deutero, Deutschland) überschichtet. Anschließend wurden die Reaktionsgemische mit 10 °C/min auf 150 °C mittels der Mikrowelle erhitzt. Nach 40 min wurde der Abkühlprozess mit einer Dauer von 15 min eingeleitet. Die Inhalte der Mikrowellengefäße wurden jeweils durch Faltenfilter in Scheidetrichter überführt. Anschließend wurden die organischen Phasen abgenommen, über Na₂SO₄ getrocknet und mittels GC/MS (Tabelle 13, Kapitel 4.1.2) gemessen.

Deuterierungsversuch Nr. 3

Es wurde jeweils 1 mg der PCT-Testsubstanz zweimal in Chlorform-D1 (99,8%, Deutero, Deutschland) und Dichlormethan-D2 (99,6%, Deutero, Deutschland) gelöst und in Mikrowellengefäße mit Magnetrührstäbchen überführt. Anschließend wurden die Lösungen mit 6 mL D₂O (99,95%, Deutero, Deutschland) überschichtet. Anschließend wurden die Reaktionsgemische mit 10 °C/min auf 150 °C mittels der Mikrowelle erhitzt. Nach 60 min wurde der Abkühlprozess mit einer Dauer von 15 min eingeleitet. Die Inhalte der Mikrowellengefäße wurden jeweils in Scheidetrichter überführt. Anschließend wurden die organischen Phasen abgenommen, über Na₂SO₄ getrocknet und mittels GC/MS (Tabelle 13, Kapitel 4.1.2) gemessen.

Deuterierungsversuch Nr. 4

Es wurden im zweifachen Ansatz 4 mg (0,01 mmol) der PCT-Testsubstanz in 1 mL Dichlormethan-D2 (99,6%, Deutero, Deutschland) gelöst und in Mikrowellengefäße mit Magnetrührstäbchen überführt. Anschließend wurden die Lösungen mit 5 mg (0,03 mmol) Platin/γ-Aluminiumoxid-Katalysator (5% Pt, Merck KGaA, Deutschland) versetzt und mit 6 mL D₂O (99,95%, Deutero, Deutschland) überschichtet. Anschließend wurden die Reaktionsgemische mit 10 °C/min auf 150 °C mittels der Mikrowelle erhitzt. Nach 60 min wurde der Abkühlprozess mit einer Dauer von 15 min eingeleitet. Die Inhalte der Mikrowellengefäße wurden jeweils durch Faltenfilter in Scheidetrichter überführt und mit 20 mL DCM nachgespült. Anschließend wurden die orga-

nischen Phasen abgenommen, über Na_2SO_4 getrocknet, der Faltenfilter mit 10 mL DCM nachgespült und mittels GC/MS (Tabelle 13, Kapitel 4.1.2) gemessen.

Deuterierungsversuch Nr. 5

In vier Mikrowellengefäße mit Magnetrührstäbchen wurden jeweils 10 mL Deuterierungsreagenz bestehend aus D_2O , 4% DCI und Chrom (10 mg/mL) vorgelegt. In jeweils zwei Gefäße wurde 1 mg der PCT-Testsubstanz ungelöst hinzugefügt. In ein Gefäß wurde 1 mg der PCT-Testsubstanz gelöst in 1 mL Dichlormethan- D_2 (99,6%, Deutero, Deutschland), in das vierte Gefäß wurde 1 mg der PCT-Testsubstanz gelöst in 1 mL Dichlormethan hinzugefügt. Anschließend wurden die Reaktionsgemische mit 10 °C/min auf 150 °C mittels der Mikrowelle erhitzt. Nach 60 min wurde der Abkühlprozess mit einer Dauer von 15 min eingeleitet. Die Inhalte der Mikrowellengefäße wurden jeweils durch Faltenfilter in Scheidetrichter überführt und mit 20 mL DCM nachgespült. Anschließend wurden die organischen Phasen abgenommen, über Na_2SO_4 getrocknet, der Faltenfilter mit 10 mL DCM nachgespült und mittels GC/MS (Tabelle 13, Kapitel 4.1.2) gemessen.

4.2 GC/MS Methodenoptimierung

Um alle einzelnen Kongenere des PCT-Mischstandards ohne gegenseitige Störung erfassen und somit eindeutig identifizieren zu können, musste eine GC/MS Methodenoptimierung vorgenommen werden. Hierfür wurden die folgenden in Tabelle 17 aufgeführten Parameter untersucht.

Tabelle 17: GC/MS Methodenoptimierung

GC-Säule	DB 5ms UI, 30 m x 250 μm x 0,25 μm DB XLB, 30 m x 250 μm x 0.25 μm DB 5, 60 m x 250 μm x 0,25 μm
Einlass-Liner	einfach-konisch; doppelkonisch mit/ohne Glaswolle
Temperaturprogramm des GC-Ofens	Starttemperatur, Haltezeiten, Aufheizraten
Temperaturprogramm des Injektors	Starttemperatur, Haltezeiten, Aufheizraten
Injektionsmodus	splitless; pulsed splitless
Einlasssystem	MMI (Multi Mode Inlet von Fa. Agilent Technologies) KAS 4 (Kaltaufgabesystem von Fa. Gerstel)

Zur Empfindlichkeitssteigerung wurde eine SIM-Methode (Einzelmassenregistrierung, engl. selected ion monitoring) entwickelt. Hierfür wurden zunächst aus den Massenspektren der einzelnen Kongenere die drei höchsten Massen aus dem Chlor-Isotopenmuster bestimmt, anschließend die Ionen in Zeitfenster gruppiert und die Verweilzeit pro Masse (dwell time) ermittelt. Die optimierten und damit endgültigen Parameter der GC/MS-Methode sind der Tabelle 56 (Kapitel 5.2) zu entnehmen.

4.3 PCT-Analysenverfahren

Das PCT-Analysenverfahren beinhaltet ein modular aufgebautes säulenchromatographisches Clean-Up, bestehend aus verschiedenen Adsorptionsmaterialien gefolgt von einer Florisil-Säule zur Trennung der coplanaren von den nicht-coplanaren PCT. Zur Herstellung der Chromatographiesäulen wurden Glassäulen mit einem Durchmesser von 1,6 cm und einer Länge von 30 cm verwendet, die mit Baumwollwatte als Auslaufschutz am Auslass bestückt waren. Jede Säule wurde mit 10 g Na₂SO₄, das zuvor 4 h bei 500 °C im Muffelofen konditioniert wurde, überschichtet. Es diente als Schutz der Adsorptionsschicht und sollte etwaiges Wasser binden. In Tabelle 18 sind die benötigten Chemikalien für den Analysegang aufgelistet.

Tabelle 18: Verwendete Chemikalien des Analyseanges

Adsorbens	Hersteller
Aluminiumoxid, Alumina B-Super I	MP Biomedicals, Deutschland
Florisil® für die Chromatographie 60-100 mesh	Carl Roth GmbH, Deutschland
Kieselgel 63-200 mesh, 60 Å	MP Biomedicals, Deutschland
Lösungsmittel	Hersteller
Cyclohexan, Rotisolv® ≥ 99,9 %, GC Ultra Grade	Carl Roth GmbH, Deutschland
Dichlormethan, Rotisolv® ≥ 99,9 %, GC Ultra Grade	Carl Roth GmbH, Deutschland
<i>n</i> -Hexan, Rotisolv® ≥ 99% Pestilyse	Carl Roth GmbH, Deutschland
weitere Chemikalien	Hersteller
Natriumhydroxid (NaOH), ≥ 99%, p.a.	Carl Roth GmbH, Deutschland
Natriumsulfat (Na ₂ SO ₄), > 99,9%, p.a.	Fischer Scientific, England
Schwefelsäure (H ₂ SO ₄), konz., > 95 %, p.a.	Fischer Scientific, England

4 Material und Methoden

Vor Einsatz der Adsorbentien mussten diese konditioniert werden (Tabelle 19). Während die Kieselgele auf Vorrat vorbereitet werden konnten, wurde das Florisil stets frisch, also einen Tag vor Gebrauch angesetzt.

Tabelle 19: Konditionierung der Adsorbentien

Aluminiumoxid	Aktivitätsstufe I (0% Wasserzusatz) konnte ohne weitere Vorbehandlung eingesetzt werden
neutrales Kieselgel	Aktivierung im Muffelofen bei 180 °C für 2 h
saures Kieselgel (44% konz. H ₂ SO ₄)	5,60 g des aktivierten, neutralen Kieselgels wurden mit 4,40 g konz. H ₂ SO ₄ versetzt, bis zur Homogenität geschüttelt und über Nacht stehen gelassen
basisches Kieselgel (33% 1 M NaOH)	3,35 g des aktivierten, neutralen Kieselgels wurden mit 1,65 g NaOH (1M) versetzt, bis zur Homogenität geschüttelt und über Nacht stehen gelassen
Florisil	Aktivierung im Muffelofen bei 180 °C für 2 h 24,5 g des aktivierten Florisils wurden mit 0,5 g Wasser versetzt, bis zur Homogenität geschüttelt und über Nacht stehen gelassen

Der Ablauf des Analysenganges ist in der Abbildung 11 dargestellt.

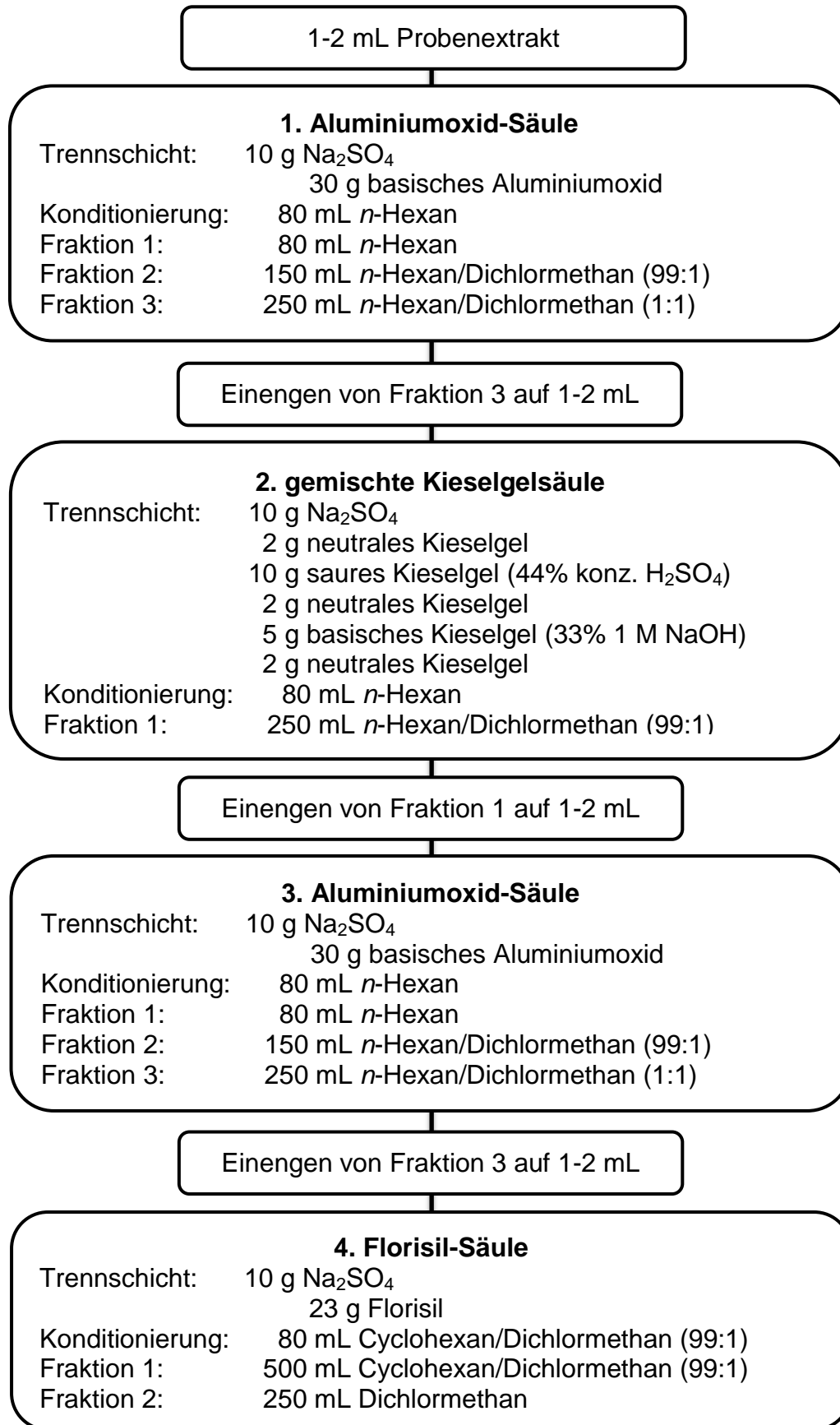


Abbildung 11: Ablauf des PCT-Analysenganges

4 Material und Methoden

Die beiden Fraktionen von der Florisil-Säule wurden mit 100 µL eines 500 pg/µL 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin-Standards (kurz: TCN, LGC Promochem GmbH, Deutschland, Standardkonzentration: 10 µg/mL) als Einspritzstandard bzw. internem Standard versetzt, am Rotationsverdampfer bzw. im Stickstoffstrom auf exakt 1 mL eingeeengt und mittels der in Kapitel 4.2 entwickelten GC/MS-Methode analysiert (Tabelle 56, Kapitel 5.2). Damit ein Messsignal als PCT-Kongener identifiziert werden konnte, musste es in Anlehnung an die USEPA-Messmethode für PCDD/F folgende Kriterien erfüllen [97,98]:

- a) Die Retentionszeit des Probensignals musste der Retentionszeit der Referenzsubstanz entsprechen, wobei eine Abweichung von ± 2 s (0,03 min) akzeptiert wurde.
- b) Die registrierten Ionenmassenpaare mussten in einem bestimmten Isotopenintensitätsverhältnis zueinander auftreten, wobei eine Abweichung von $\pm 15\%$ toleriert wurde (Tabelle 20).

Tabelle 20: Theoretische Intensitätsverhältnisse inklusive Toleranzgrenzen mit X^+ = Molekülion M^+ [98]

PCT	Ionenmassenpaare	theoretische	Toleranzgrenzen	
		Intensitäts- verhältnisse	untere	obere
Tetra	$[X]^+ / [X+2]^+$	0,76	0,65	0,87
	$[X+4]^+ / [X+2]^+$	0,50	0,43	0,58
Penta	$[X]^+ / [X+2]^+$	0,61	0,52	0,70
	$[X+4]^+ / [X+2]^+$	0,66	0,56	0,76
Hexa	$[X]^+ / [X+2]^+$	0,51	0,43	0,59
	$[X+4]^+ / [X+2]^+$	0,82	0,70	0,94
Hepta	$[X+4]^+ / [X+2]^+$	0,98	0,83	1,13
	$[X+6]^+ / [X+2]^+$	0,54	0,46	0,62

Die Quantifizierung erfolgte über Auswertung der Peakflächen mittels externer Kalibrierung (Kapitel 4.4.2).

4.4 Methodenvalidierung

Um die PCT-Analysenmethode der internationalen Fachwelt als anwendungssicher vorstellen zu können, war nachzuweisen, dass sie geeignet und zuverlässig ist. Zu diesem Zweck wurde eine wissenschaftlich basierte Validierung vorgenommen. Hierzu sind in der Literatur keine exakten Richtlinien zu finden. Vielmehr steht es dem Analytiker frei, den Umfang seines Validierungsaufwandes zu bestimmen [99–101]. Allerdings wurden zahlreiche Leitlinien und Vorgehensweisen publiziert, die Orientierung bieten [99–111].

Die Anwendung einer Analysenmethode beginnt mit der Probenahme. Diese kann bei der Betrachtung von PCT-Kontaminationen sehr unterschiedlich auszuführen sein. Aufgrund ihrer Eigenschaften werden PCT in Probenmaterialien hauptsächlich in lipophilen Phasen absorbiert oder auf festen Oberflächen adsorbiert sein. Aufgrund ihrer früheren Anwendungen können sie auch in polymeren Strukturen eingebettet sein. Daher ist die Bandbreite an Probenmatrices sehr groß: von biologischem Material (Blut, Fettgewebe etc.), über Umweltmaterialien wie Böden und Sedimente bis hin zu anthropogenen Materialien (technische Produkte, Abfälle) und Brandrestproben. Aufgrund dieser Vielfalt wurden die Probenahme sowie Probenkonditionierung nicht bei der Methodenvalidierung berücksichtigt. Es gelten hier die allgemeingültigen Richtlinien und Normen einer repräsentativen Probenahme und –vorbereitung. Es ist bekannt, dass bei chlororganischen Verbindungen, die mit UV-Licht bestrahlt werden, stufenweise Dechlorierungen stattfinden. Daher sollten Proben lichtgeschützt in Braunglasflaschen gelagert werden. Mit biologischen Abbauvorgängen der PCT ist aufgrund der bekannten Persistenz kaum zu rechnen. Um mikrobiologisch bedingte Veränderungen von Proben auszuschließen, sollten diese eingefroren werden.

Da kein Referenzmaterial mit definierten PCT-Gehalten verfügbar war, wurde die Methodenvalidierung mit artifiziellen Proben durchgeführt (Kapitel 4.4.1). Hierbei wurden folgende Kenngrößen bzw. Leistungsmerkmale der Analysenmethode bestimmt: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze, Selektivität und Spezifität, Präzision, Linearität, Richtigkeit und Wiederfindungsraten.

4.4.1 Herstellung artifizierter Proben

4.4.1.1 Brandprobe

Um eine artifizierende Brandprobe herzustellen, wurde Harzer Buchenholzkohle mit einem Hammer grob vorzerkleinert und anschließend in einem Mörser mit Pistill zerrieben. Mit einer Ultra-Zentrifugalmühle (Typ ZM 200, Fa. Retsch, Deutschland) wurde die Kohle auf eine Korngröße von $\leq 0,5$ mm gemahlen. Für eine Soxhlet-Extraktion wurden 50 g der gemahlenen Kohle in Extraktionshülsen (MN 645, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Deutschland) eingewogen, mit 5 g Natriumsulfat ($> 99,9\%$, p.a., Fischer Scientific, England) versetzt, mit Baumwollwatte abgedeckt und anschließend 16 h mit einem Lösemittelgemisch aus *n*-Hexan/Aceton (2:1) extrahiert (Tabelle 21). Der Extrakt wurde am Rotationsverdampfer eingeeengt, in einen 10 mL Messkolben überführt und mit *n*-Hexan aufgefüllt. Zur Charakterisierung des Extraktes wurde ein GC/MS-Screening durchgeführt (Tabelle 22). Für einen Analysendurchgang wurde 1 mL des Extraktes (entspricht 5,0 g Kohle) mit 100 μ L des hergestellten 500 pg/ μ L Mischstandards (Kapitel 4.1.3) dotiert.

Tabelle 21: Lösungsmittel der Soxhlet-Extraktion

Lösungsmittel	Hersteller
Aceton, 99,9%, p.a.	VWR International Frankreich
<i>n</i> -Hexan, 98,7%, p.a.	Fischer Scientific UK

Tabelle 22: GC/MS-Screening-Parameter

GC: 7890B GC; Agilent Technologies, Deutschland

Injektor:	splitless, 50 mL/min nach 2 min
Injektortemperatur:	250 °C
Injektionsvolumen:	1 μ L
Säule:	HP-5ms Ultra Inert, 30 m; 0,25 mm Id.; 0,25 μ m Filmdicke
Säulenfluss:	1 mL/min Helium, constant flow
Temperaturprogramm:	60 °C (2 min), 5 °C/min, 300 °C (5 min)

MS: 5977A MSD; Agilent Technologies, Deutschland

Transferline:	300 °C
Ionisation:	Elektronenstoß, 70 eV
Ionenquelle, Quadrupol	230 °C, 150 °C
Modus:	SCAN, Massenbereich: 45 – 550 m/z

4.4.1.2 Bodenprobe

Für die Herstellung einer artifiziellen Bodenprobe wurde Ackerboden, der zuvor von der landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt (LUFA) Nord-West analysiert worden war (Tabelle 23), auf einem Tablett ausgebreitet und 24 h an der Luft getrocknet. Zur Homogenisierung wurde der Boden mittels einer Ultra-Zentrifugalmühle (Typ ZM 200, Fa. Retsch, Deutschland) auf eine Korngröße von $\leq 0,5$ mm gemahlen. Für die anschließende Soxhlet-Extraktion wurden 100 g des getrockneten Bodens in Extraktionshülsen (MN 645, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Deutschland) eingewogen, mit 10 g Natriumsulfat ($> 99,9\%$, p.a., Fischer Scientific, England) versetzt und mit Baumwolle abgedeckt. Anschließend wurde 16 h mit *n*-Hexan/Aceton (2:1) extrahiert (Tabelle 21, Kapitel 4.4.1.1). Der Extrakt wurde am Rotationsverdampfer eingengt, in einen 10 mL Messkolben überführt und mit *n*-Hexan aufgefüllt. Zur Charakterisierung der Matrix wurde ein GC/MS-Screening durchgeführt (Tabelle 22). Für einen Analysendurchgang wurde 1 mL des Extraktes (entsprach 10,0 g Boden) mit 100 μ L des hergestellten 500 pg/ μ L Mischstandards (Kapitel 4.1.3) dotiert.

Tabelle 23: Prüfbericht des Bodens, LUFA Nord-West

Parameter	Ergebnis
Nutzung	Acker
Bodenart	lehmiger Sand humusarm bis humos
Kalk pH-Wert	4,9
Phosphor P mg in 100 g, bei Moor in 100 mL Boden (CAL)	14
Kalium K mg in 100 g, bei Moor in 100 mL Boden (CAL)	8
Magnesium Mg mg in 100 g, bei Moor in 100 mL (CaCl_2)	4
Humus	2,7%
C org.	1,55%
Stickstoff (N) ges.	0,14%
C/N-Verhältnis	11
Ton	5,5%
Schluff	15,3%
Sand	79,2%
Bodenart (nach KA 5)	SI 2

4.4.1.3 Fettprobe

Für die artifizielle Fettprobe wurde 1 mL Sonnenblumenöl mit 100 µL des in Kapitel 4.1.3 hergestellten 500 pg/µL Mischstandards dotiert. Die Zusammensetzung der Fettsäuren in dem Pflanzenöl ist in Tabelle 24 dargestellt. Zudem ist Vitamin E mit einem Gehalt von 50 mg/ 100 g enthalten.

Tabelle 24: Verteilung der Fettsäuren im Sonnenblumenöl [112]

Fettsäure	C-Atome : Doppelbindungen	Masse-% (häufigster Wert)
Palmitinsäure	16:0	3–10 (6,2)
Palmitoleinsäure	16:1	< 0,1
Stearinsäure	18:0	1–10 (4,75)
Ölsäure	18:1	14–65 (19,8)
Linolsäure	18:2	20–75 (67,0)
Linolensäure	18:3	< 0,7
Arachinsäure	20:0	< 1,5
Gadoleinsäure	20:1	< 0,5
Behensäure	22:0	< 1,0

4.4.2 Linearität

Für quantitative Analysen ist eine richtige Kalibrierung unerlässlich, d.h. es wird eine reproduzierbare Korrelation zwischen Signal und Konzentration des Analyten benötigt. Zur Ermittlung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze wurden zehn äquidistante Kalibrierlösungen im Bereich von 11 pg/µL bis 20 pg/µL aus dem 100 pg/µL- Mischstandard (Kapitel 4.1.3) angesetzt, mittels GC/MS gemessen und die Kalibrierfunktion ermittelt (Kalibrierung 1). Zur Überprüfung der Spezifität wurden zehn äquidistante Kalibrierlösungen im Bereich von 10 pg/µL bis 100 pg/µL aus dem 500 pg/µL- Mischstandard, der mit analytähnlichen Verbindungen versetzt wurde (Kapitel 4.4.4), angesetzt, wobei jede Verdünnungsstufe mit 100 µL eines 500 pg/µL TCN-Standards versetzt wurde. Diese wurden mittels GC/MS analysiert und ebenfalls die Kalibrierfunktion berechnet (Kalibrierung 2), wobei hier das Signalverhältnis PCT/TCN verwendet wurde [Gleichung (1)]. Für die Analysen der artifiziellen Proben sowie der HPLC-Florasil-Analyse wurden zehn äquidistante Kalibrierlösungen im Bereich von 10 pg/µL bis 100 pg/µL aus dem 500 pg/µL- Mischstandard (Kapitel 4.1.3) erstellt, jede Verdünnungsstufe mit 100 µL des 500 pg/µL TCN-Standards

4 Material und Methoden

versetzt, jeweils mittels GC/MS analysiert und ebenfalls die Kalibrierfunktion unter Berücksichtigung des Signalverhältnisses bestimmt (Kalibrierung 3). Die Kalibrierung des HPLC-Florisil-Versuches mit nicht coplanaren PCT (Kapitel 4.5) erfolgte nach dem gleichen Schema, wobei der dort angesetzte Standard als Arbeitsstandard verwendet wurde (Kalibrierung 4).

$$\frac{y_{\text{PCT}}}{y_{\text{TCN}}} = a + b \cdot \frac{x_{\text{PCT}}}{x_{\text{TCN}}} \quad (1)$$

x : Konzentration

y : Messwert

Es wurden folgende Kenndaten der Regression ermittelt: Steigung b, Achsenabschnitt a, Korrelationskoeffizient r, Bestimmtheitsmaß r^2 , Verfahrensstandardabweichung s_{x0} [Gleichung (2)] und Verfahrensvariationskoeffizient V_{k0} [Gleichung (3)].

$$s_{x0} = \frac{s_y}{b} \quad (2)$$

s_y : Reststandardabweichung, Streuung der Messwerte um die Kalibriergerade

$$V_{k0} = \frac{s_{x0}}{x} \cdot 100\% \quad (3)$$

Das gängige Akzeptanzkriterium für V_{k0} bei Kalibrierungen liegt bei $< 3,33\%$ [99,113]. In der Regel sollte mit einer linearen Funktion ($y = a + bx$) gearbeitet werden und nur in begründeten Ausnahmefällen eine quadratische Funktion ($y = a + bx + cx^2$) zum Einsatz kommen. Neben der visuellen Betrachtung wurde die Linearität rechnerisch nach DIN 38402, Teil 51 mit Hilfe des Anpassungstests nach Mandel überprüft [Gleichungen (4) und (5)] [99,107,114].

$$DS^2 = (n - 2) \cdot sy_1^2 - (n - 3) \cdot sy_2^2 \quad (4)$$

DS^2 : Differenz der Abweichungsvarianzen

n : Anzahl der Kalibrierstandards

sy_1 : Reststandardabweichung der linearen Funktion

sy_2 : Reststandardabweichung der quadratischen Funktion

$$PG_{\text{Mandel}} = \frac{DS^2}{sy_2^2} \quad (5)$$

4 Material und Methoden

Die Prüfgröße PG_{Mandel} wurde mit dem Tabellenwert der F -Verteilung (Anhang, Tabelle A 1) bei einer statistischen Wahrscheinlichkeit $P = 99\%$ verglichen (mit $f = \text{Freiheitsgrad}$, $f_1 = 1$, $f_2 = n-3$). War $PG_{\text{Mandel}} \leq F$, so führte die quadratische Kalibrierfunktion zu keiner signifikant besseren Anpassung an die Messwerte, d.h. die Kalibrierfunktion war linear.

Da Kalibrierreihen frei von Ausreißern sein müssen, wurde ein Ausreißertest durchgeführt. Hierfür wurden zunächst die Residuen, die vertikalen Abstände der Messwerte von der Kalibriergeraden, nach Gleichung (6) berechnet, wobei ein Wertepaar mit einem großen Residuum einen potenziellen Ausreißer darstellte. Nachdem dieses Wertepaar eliminiert worden war, wurde eine neue Kalibriergerade mit der Reststandardabweichung s_{yA2} berechnet. Anschließend erfolgte die Überprüfung mittels F -Test [Gleichung (7)]. Hierfür wurden die Reststandardabweichungen der ursprünglichen Kalibriergeraden s_{yA1} und der neuen Kalibriergeraden s_{yA2} auf signifikante Unterschiede überprüft.

$$d_i = y_i - \hat{y}_i \quad \text{für } i = 1, \dots, n \quad (6)$$

d_i : Residuen

y_i : Messwert

\hat{y}_i : zu y_i zugehöriger Schätzwert der Kalibriergeraden

$$PG_{F\text{-Test}} = \frac{(n_{A1} - 2) \cdot s_{yA1}^2 - (n_{A2} - 2) \cdot s_{yA2}^2}{s_{yA2}^2} \quad (7)$$

n_{A1} : Ursprüngliche Anzahl der Kalibrierstandards

n_{A2} : neue Anzahl der Kalibrierstandards

Die Prüfgröße wurde mit dem Wert aus der F -Tabelle (Anhang, Tabelle A 1) verglichen ($f_1 = 1$, $f_2 = n-3$, $P = 99\%$). War $PG_{F\text{-Test}} < F$, so lag mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% kein Ausreißer vor [107].

Des Weiteren wurden die Kalibrierreihen auf Varianzhomogenität überprüft [Gleichung (8)]. Hierfür wurde jeweils zehnfach die niedrigste sowie die höchste Konzentration der Kalibrierreihe mittels GC/MS gemessen und die Varianzen s_1^2 und s_2^2 der beiden Messwertreihen berechnet.

4 Material und Methoden

$$s_i^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} \quad (8)$$

x : Konzentration

n : Anzahl Kalibrierstandards

Der Quotient aus den Varianzen ergab die Prüfgröße PG_{Varianz} [Gleichung (9)], die mit der *F*-Tabelle (Tabelle A 1) verglichen wurde (mit $f_i = n-1$, $P = 99\%$).

$$PG_{\text{Varianz}} = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad \text{wobei } s_1 > s_2 \text{ ist} \quad (9)$$

War $PG_{\text{Varianz}} < F$, so bestand Varianzhomogenität bzw. Varianzinhomogenität konnte nicht nachgewiesen werden und die Werte stellten eine Grundgesamtheit dar [99].

Zudem wurde überprüft, ob sich die untere Arbeitsbereichsgrenze signifikant von null unterscheidet. Hierfür wurde der Prüfwert x_P analog zur Berechnung der Erfassungsgrenze nach Gleichung (10) ermittelt.

$$x_P = 2 \cdot \frac{y_P - a}{b} \quad (10)$$

mit

$$y_P = a + s_y \cdot t \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + 1 + \frac{\bar{x}^2}{\sum (x_i - \bar{x}^2)}} \quad (11)$$

a : Achsenabschnitt

b : Steigung

s_y : Standardabweichung des Messwertes y

t : Quantil der t-Verteilung

n : Anzahl Kalibrierstandards

x : Konzentration

Die kleinste Konzentration des Arbeitsbereichs x_1 unterschied sich signifikant von der Konzentration Null, wenn $x_P < x_1$ war. Damit wurde der gewählte Arbeitsbereich statistisch abgesichert [107].

Für die ermittelten Ergebnisse wurde ein Vertrauensbereich (VB) berechnet [Gleichung (12)], der den Bereich des tatsächlichen Wertes angibt [99,107]:

$$VB = s_{x0} \cdot t \cdot \sqrt{\frac{1}{n_{\text{Kali}}} + \frac{1}{n_{\text{Analyse}}} + \frac{(y - \bar{y}_{\text{Kali}})^2}{b^2 \cdot Q_{xx}}} \quad (12)$$

s_{x0} : Verfahrensstandardabweichung

t : Quantil der t-Verteilung ($P = 95\%$, $f = n_{\text{Kali}} - 2$)

n : Anzahl

y : Messwert

b : Steigung

Q_{xx} : Quadratsumme

4.4.3 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen

Die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen wurden nach DIN 32645 mittels der Kalibriergeradenmethode für jedes einzelne der 29 relevanten PCT-Kongeneren bestimmt. Da Messwerte aufgrund von zufälligen, statistischen Fehlern bei Wiederholung streuen können, ist es wichtig, die Wahrscheinlichkeit anzugeben, bei der sich der Messwert des Analyten signifikant vom Leerwert unterscheidet [103]. In der Tabelle 25 sind die Begriffe Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze definiert.

Tabelle 25: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze: Definitionen [99,103,107]

Nachweisgrenze x_{NG}	kleinste nachweisbare Konzentration eines Stoffes, Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein des Analyten (Ja/Nein-Entscheidung) unter Angabe der Irrtumswahrscheinlichkeit (meist 50%) und der Anzahl der Freiheitsgrade
Erfassungsgrenze x_{EG}	Mindestkonzentration eines Stoffes, die mit hoher vorgegebener Wahrscheinlichkeit (z.B. 95%) nachgewiesen werden kann
Bestimmungsgrenze x_{BG}	kleinste quantifizierbare Konzentration eines Stoffes

Zur Berechnung der Grenzen wurden zehn äquidistante Kalibrierlösungen im Bereich von 11 pg/μL bis 20 pg/μL aus dem 100 pg/μL-Mischstandard (Kapitel 4.1.3) angesetzt, analysiert und die Kalibrierfunktion ermittelt. Dabei galten nach der DIN 32645 folgende mathematischen Voraussetzungen:

4 Material und Methoden

1. Messwerte mussten voneinander unabhängig und normal verteilt sein
2. Varianzhomogenität zwischen dem kleinsten und größten Kalibrierwert
3. lineare Kalibrierfunktion
4. höchster Kalibrierwert/errechnete NG ≤ 10

4.4.3.1 Nachweisgrenze

Zur Ermittlung der Nachweisgrenze x_{NG} wurde zunächst der kritische Wert der Messgröße y_k der Kalibrierfunktion nach Gleichung (13) berechnet.

$$y_k = a + \Delta a \quad (13)$$

mit Δa als Prognosebereich des Achsenabschnittes:

$$\Delta a = s_{y,x} \cdot t_{f,\alpha} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \quad (14)$$

$s_{y,x}$: Reststandardabweichung der Messwerte der Kalibrierung

$t_{f,\alpha}$: Quantil der t-Verteilung bei einseitiger Fragestellung für dem Fehler 1. Art

n : Anzahl der Kalibrier-Konzentrationsstufen

m : Anzahl der Mehrfachanalysen einer Probe

\bar{x} : Mittelwert

Q_{xx} : Quadratsumme

Der kritische Wert der Messgröße y_k wurde anschließend in die Kalibrierfunktion eingesetzt und diese nach x_{NG} aufgelöst [Gleichung (15)].

$$x_{NG} = \frac{y_k - a}{b} \quad (15)$$

a : Achsenabschnitt der Kalibriergeraden

b : Steigung der Kalibriergeraden

4.4.3.2 Erfassungsgrenze

Zur Berechnung der Erfassungsgrenze x_{EG} galt Gleichung (16).

$$x_{EG} = x_{NG} + s_{x0} \cdot t_{f,\beta} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{\bar{x}^2}{Q_{xx}}} \quad (16)$$

x_{NG} : Nachweisgrenze

s_{x0} : Verfahrensstandardabweichung bei Homogenität der Varianzen

$t_{f,\beta}$: Quantil der t-Verteilung bei einseitiger Fragestellung für den Fehler 2. Art

n : Anzahl der Kalibrier-Konzentrationsstufen

m : Anzahl der Mehrfachanalysen einer Probe

\bar{x} : Mittelwert

Q_{xx} : Quadratsumme

Da $\alpha = \beta$ ist $t_{f,\alpha} = t_{f,\beta}$ und Gleichung (16) vereinfacht sich zu Gleichung (17).

$$x_{EG} = 2 \cdot x_{NG} \quad (17)$$

4.4.3.3 Bestimmungsgrenze

Um die Bestimmungsgrenze x_{BG} mittels der Kalibriergeradenmethode zu ermitteln, wird die maximale relative Ergebnisunsicherheit nach Gleichung (18) definiert:

$$\frac{\Delta x_{BG}}{x_{BG}} = \frac{1}{k} \quad (18)$$

Die halbe Breite des zweiseitigen Vorhersagebereichs wird ermittelt durch Gleichung (19).

$$\Delta x_{BG} = s_{x0} \cdot t_{f,\frac{\alpha}{2}} \cdot \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(x_{BG} - \bar{x})^2}{Q_x}} \quad (19)$$

Aus den Gleichungen (18) und (19) ergibt sich die quadratische Gleichung (20) zur Berechnung der Bestimmungsgrenze x_{BG} .

$$x_{BG} = k \cdot s_{x0} \cdot t_{f,\frac{\alpha}{2}} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(x_{BG} - \bar{x})^2}{Q_{xx}}} \quad (20)$$

k : Faktor, s. Tabelle 26

s_{x0} : Verfahrensstandardabweichung bei Homogenität der Varianzen

$t_{f, \frac{\alpha}{2}}$: Quantil der t-Verteilung bei zweiseitiger Fragestellung für den Fehler 1. Art

n : Anzahl der Kalibrier-Konzentrationsstufen

m : Anzahl der Mehrfachanalysen einer Probe

\bar{x} : Mittelwert

Q_{xx} : Quadratsumme

Tabelle 26: k-Faktoren zur Berechnung der Bestimmungsgrenze [107]

max. zulässige relative Ergebnisunsicherheit [%]	k-Faktor
5,0	20,0
10,0	10,0
15,0	6,7
20,0	5,0
25,0	4,0
33,3	3,0
50,0	2,0

4.4.4 Selektivität und Spezifität

Die Begriffe Selektivität und Spezifität werden häufig synonym in der Literatur gebraucht, werden aber im Folgenden einzeln erläutert [111].

Selektivität beschreibt die Fähigkeit, mit Hilfe der Messmethode alle interessierenden 29 coplanaren PCT ohne gegenseitige Störung zu detektieren und sie somit eindeutig zu bestimmen. Dies umfasst die in Kapitel 4.2 beschriebene Optimierung der gaschromatographischen und massenspektrometrischen Bedingungen der neuen Methode. Ist die Richtigkeit der Methode bewiesen, so ist auch die Selektivität bestätigt (Kapitel 4.4.7) [99,111].

Spezifität ist die Fähigkeit, mit Hilfe des Analysenverfahrens die 29 Indikator-kongenere ohne Verfälschung durch andere in der Probe vorhandene Substanzen erfassen und damit zweifelsfrei analysieren zu können [99,111]. Zu falschen Messwerten könnten zum einen Matrixbestandteile und zum anderen analytähnliche Verbindungen wie nicht coplanare PCT, PCB und PCDD/F führen. Um diesen Aspekt zu überprüfen, wurde ein 500 pg/μL-Mischstandard in Cyclohexan aus den 29 relevanten coplanaren PCT, fünf nicht coplanaren PCT, sechs PCB („PCB-Mix 1“, 10 μg/mL in Cyclohexan, LGC Standards GmbH, Deutschland), zwei PCDD (je 50 μg/mL in

4 Material und Methoden

n-Nonan, Wellington Laboratories, Kanada) und den 16 EPA-PAK („PAH-Mix 9“, 10 µg/mL in Cyclohexan, LGC Standards GmbH, Deutschland) hergestellt (Tabelle 27). Es wurden 100 µL dieses Mischstandards in einem 1 mL Messkolben vorgelegt, mit *n*-Hexan aufgefüllt und der vierstufige Säulenaufarbeitungsgang mit anschließender GC/MS-Messung durchgeführt. Für die Validierung wurde dieser Schritt sechsmal durchgeführt.

Die fünf nicht coplanaren PCT stammen aus früheren IÖNC-Arbeiten und wurden mit der gleichen Systematik nummeriert, die bei den 29 coplanaren PCT angewendet wurde. Zur Unterscheidung wurde lediglich mit Buchstaben anstelle von Zahlen gearbeitet.

Tabelle 27: Übersicht der analytähnlichen Verbindungen

nicht coplanare-PCT		PAK
PCT A	3,5,2',3'',5''-Pentachlor-p-terphenyl	Naphthalin
PCT B	2,3,5,2'',3'',5''-Hexachlor-p-terphenyl	Acenaphthylen
PCT C	2,5,2'',5''-Tetrachlor-m-terphenyl	Acenaphthen
PCT D	2,3,5,2'',3'',5''-Hexachlor-m-terphenyl	Fluoren
PCT E	3,5,3'',5''-Tetrachlor-o-terphenyl	Phenanthren
PCB		Anthracen
PCB 28	2,4,4'-Trichlorbiphenyl	Fluoranthren
PCB 52	2,2',5,5'-Tetrachlorbiphenyl	Pyren
PCB 101	2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl	Benzo[a]anthracen
PCB 138	2,2',3,4,4',5-Hexachlorbiphenyl	Chrysen
PCB 153	2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl	Benzo[b]fluoranthren
PCB 180	2,2',3,4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl	Benzo[k]fluoranthren
PCDD		Benzo[a]pyren
1,2,3,4-TCDD	1,2,3,4-Tetrachlordibenzodioxin	Dibenzo[a,h]anthracen
OCDD	Octachlordibenzodioxin	Indeno[1,2,3-cd]pyren
		Benzo[ghi]perylen

4.4.5 Präzision

Die Präzision einer Methode gibt die Streuung von Analyseergebnissen ausgelöst durch zufällige Fehler an. Als Maß wird die Standardabweichung s [Gleichung (21)] bzw. der Variationskoeffizient V_k [Gleichung (22)] angegeben.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (21)$$

x_i : Einzelwert

\bar{x} : Mittelwert

n : Anzahl der Messungen

$$V_k = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\% \quad (22)$$

Um der Standardabweichung eine Wahrscheinlichkeit zuordnen zu können, müssen die Werte normalverteilt sein. Hierfür kann bei kleineren Stichproben ($n \leq 10$) der Schnelltest nach David angewendet werden [Gleichung (23)]. Die Werte sind mit einer definierten Wahrscheinlichkeit (meist $P = 99\%$) normalverteilt, wenn die Prüfgröße PG sich innerhalb der von David vorgegeben Grenzwerte (Tabelle 28) befindet [99].

$$PG_{\text{David}} = \frac{R}{s} \quad (23)$$

R : Spannweite (Größter Wert – Kleinster Wert)

Tabelle 28: Auszug aus der Tabelle nach David [99]

n	untere Schranken			obere Schranken		
	95%	99%	99,9%	95%	99%	99,9%
5	2,15	2,02	1,83	2,83	2,80	2,80
6	2,28	2,15	1,83	3,16	3,16	3,10
7	2,40	2,26	1,87	3,46	3,46	3,34
8	2,50	2,35	1,87	3,74	3,74	3,54
9	2,59	2,44	1,90	4,00	4,00	3,72
10	2,67	2,51	1,90	4,24	4,24	3,88

Die Streuung von Werten wird bei instrumentellen Analysenverfahren entweder vom Messinstrument selbst oder durch die Methode verursacht. Deshalb wurden im

4 Material und Methoden

Rahmen dieser Arbeit die Mess- sowie die Methodenpräzision ermittelt. Die Messpräzision wurde bestimmt, indem drei PCT-Standardlösungen (10 pg/μL, 50 pg/μL und 100 pg/μL) je sechsfach mittels GC/MS analysiert und der Variationskoeffizient berechnet wurde. Die Methodenpräzision im Sinne einer Wiederholpräzision wurde ermittelt, indem sechsmal das Analysenverfahren mit einer dotierten artifiziellen Probe (Kapitel 4.4.1) durchgeführt und ebenfalls der Verfahrenskoeffizient berechnet wurde. Die GC/MS-Messungen wurden jeweils doppelt durchgeführt.

Mittels des Ausreißer-Tests nach Grubbs [Gleichung (24)] wurde überprüft, ob ein von den anderen abweichender Wert ein Ausreißer darstellte oder zufällig abwich.

$$PG_{\text{Grubbs}} = \frac{|x^* - \bar{x}|}{s} \quad (24)$$

x^* : ausreißerverdächtigster Wert

\bar{x} : Mittelwert

s : Standardabweichung

Die Prüfgröße PG_{Grubbs} wurde mit dem Wert in der Tabelle 29 bei gewünschter Wahrscheinlichkeit (meist $P = 95\%$) verglichen. War PG_{Grubbs} größer als der Tabellenwert, so stellte der geprüfte Wert einen Ausreißer dar.

Tabelle 29: Auszug aus der Tabelle nach Grubbs [99,107]

f = n	P = 90%	P = 95%	P = 99%
3	1,148	1,153	1,155
4	1,425	1,463	1,492
5	1,602	1,672	1,749
6	1,729	1,822	1,944
7	1,828	1,938	2,097
8	1,909	2,032	2,221
9	1,977	2,110	2,323
10	2,036	2,176	2,410

4.4.6 Wiederfindungsrate

Die Wiederfindungsrate [WFR, Gleichung (25)] beschreibt das Verhältnis zwischen Ist- und Sollwert in Prozent. Im Idealfall beträgt sie 100% [99,107].

$$\text{WFR} = \frac{\bar{x}}{\mu} \cdot 100\% \quad (25)$$

\bar{x} : Mittelwert

μ : Sollwert

Die in Kapitel 4.4.1 hergestellten artifiziellen Proben wurden jeweils sechsfach dem Analysenverfahren unterzogen, die Probenextrakte jeweils doppelt mittels GC/MS analysiert und die WFR bestimmt.

4.4.7 Richtigkeit

Richtigkeit definiert den Grad der Übereinstimmung zwischen dem Analysenwert und dem Sollwert. Um das Verfahren auf Richtigkeit zu überprüfen, wurden die drei artifiziellen Proben jeweils sechsfach dem Analysengang unterzogen, die erhaltenen Messwerte gemittelt und die Standardabweichung berechnet. Anschließend wurde der Sollwert-*t*-Test durchgeführt [Gleichung (26)].

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu|}{s} \cdot \sqrt{n} \quad (26)$$

\bar{x} : Mittelwert

μ : Sollwert

s : Standardabweichung

n : Anzahl Messungen

Der erhaltene *t*-Wert wurde mit dem *t*-Wert aus der Tabelle 30 verglichen.

Galt $t_{\text{Analyse}} \leq t_{\text{Tabelle}}$ so lag der Sollwert mit einer gegebenen Wahrscheinlichkeit innerhalb des Vertrauensbereichs des Analysenergebnisses. Es galt für den Freiheitsgrad $f = n-1$ unter Voraussetzung der Normalverteilung der Messwerte [Kapitel 4.4.5, Gleichung (23)] [99].

Tabelle 30: Auszug aus der t-Tabelle [99]

f	P = 95%	P = 99%	P = 99,9%
1	12,706	63,657	636,619
2	4,303	9,925	31,598
3	3,182	5,841	12,924
4	2,776	4,604	8,610
5	2,571	4,032	6,869
6	2,447	3,707	5,959
7	2,365	3,499	5,408
8	2,306	3,355	5,041
9	2,262	3,250	4,781
10	2,228	3,169	4,587

4.5 HPLC-Florisil

Um den vorletzten Schritt des Analysenganges, das Abtrennen der 29 PCT mittels des Adsorbens Florisil, zu optimieren, wurde der Versuch unternommen, die selbstgepackte Florisil-Chromatographiesäule durch eine HPLC-Florisil-Säule zu ersetzen. Hierdurch könnten Zeit und Lösungsmittel gespart und so ein Beitrag zum Thema Nachhaltigkeit geleistet werden. Da mit Florisil gefüllte HPLC-Säulen nicht kommerziell erhältlich sind, wurde ein HPLC-Säulen-Rohling mit einer Länge von 240 mm und einem Durchmesser von 4,6 mm mit 5 g Florisil® (für die Chromatographie, 100-200 mesh, Carl Roth GmbH, Deutschland) von der Firma Dr. Maisch HPLC GmbH Deutschland befüllt. Die Versuche wurden mit einer HPLC-Anlage der Firma Agilent Technologies Deutschland (1260 Infinity Serie, Tabelle 31) und mit den in Tabelle 32 aufgelisteten Lösungsmitteln durchgeführt.

Tabelle 31: HPLC-System der Firma Agilent Technologies, Deutschland

Komponente	Bezeichnung
Binäre Pumpe	G1312B 1260 Bin Pump
Entgaser	G4225A 1260 HiP Degasser
Probengeber	G7129A 1260 Autosampler
Säulenthermostat	G1316A 1260 TCC
Detektor	G4121B 1260 DAD
Fraktionssammler	G1364B 1260 FC-PS

Tabelle 32: Verwendete HPLC-Lösungsmittel

Lösungsmittel	Hersteller
Cyclohexan, $\geq 99,9\%$, Rotisolv®, HPLC	Carl Roth GmbH, Deutschland
Dichlormethan $\geq 99,9\%$, Rotisolv®, HPLC	Carl Roth GmbH, Deutschland

Für die Versuche wurden 100 μL des 500 $\text{pg}/\mu\text{L}$ PCT-Mischstandard (Kapitel 4.1.3) sowie 100 μL eines 500 $\text{pg}/\mu\text{L}$ PCT-Mischstandards, der zusätzlich zu den 29 Referenz-PCT fünf nicht coplanare PCT (Tabelle 27, Kapitel 4.4.4) beinhaltet, injiziert. Es wurde mit einer Flussrate von 3 mL/min und einer Temperatur von 20 $^{\circ}\text{C}$ gearbeitet sowie bei einer Wellenlänge von 254 nm detektiert. Zum Vergleich wurde ein Versuch mit der klassischen selbstgepackten Florisil-Säule durchgeführt. Alle Experimente wurden jeweils dreimal durchgeführt.

Um die optimale Trennung zwischen den coplanaren und nicht coplanaren Molekülen zu erzielen, wurden verschiedene Zusammensetzungen des Eluenten A (Cyclohexan/Dichlormethan 99:1 und 99,5:0,5 sowie reines Cyclohexan) getestet und das Gradienten-Programm angepasst. Die optimierte HPLC-Methode für die Versuche mit der Florisil-Säule ist in Tabelle 33 zusammengefasst.

Tabelle 33: HPLC-Parameter für die Verwendung der Florisil-Säule

Anlage:	1260 Infinity Agilent Technologies, Deutschland Pumpe G1312B Degasser G4225A Autosampler G7129A Säulenthermostat G1316A DAD-Detektor G4121B Fraktionssammler G1364B
Säule:	240 x 4,6 mm
stationäre Phase:	Florisil (100-200 mesh), Carl Roth GmbH, Deutschland
Eluent A:	Cyclohexan, $\geq 99\%$ Rotisolv®, HPLC, Carl Roth GmbH, Deutschland
Eluent B	Dichlormethan, $\geq 99\%$ Rotisolv®, HPLC, Carl Roth GmbH, Deutschland

Fortsetzung S. 56

4 Material und Methoden

Fortsetzung der Tabelle 33

Trennmethode:	Gradient		
	Zeit [min]	A [%]	B [%]
	0	100	0
	5	100	0
	6	0	100
	11	0	100
	12	100	0
Flussrate:	3 mL/min		
Injektionsvolumen:	100 µL		
Temperatur:	20 °C		
Detektor:	DAD (254 nm)		
Fraktionssammler:	Fraktion 1 bis 5 min		
	Fraktion 2 bis 12 min		

5 Ergebnisse und Diskussion

5.1 Synthese coplanarer PCT-Kongenere

Es wurden insgesamt 20 PCT-Kongenere mittels Suzuki-Kupplung synthetisiert, wobei PCT 9, 12 und 14 bereits in früheren Arbeiten spektroskopisch charakterisiert wurden und im Folgenden nicht näher aufgelistet werden [5,84–86].

Das Nebenprodukte-Spektrum, das mittels GC/MS-Messung im SCAN-Modus ermittelt wurde, umfasste Triphenylphosphin, Triphenylphosphinoxid, chlorierte Biphenyle und niedriger chlorierte Terphenyle. Die Produktausbeuten befanden sich zwischen 30–50%. Durch säulenchromatographische Reinigung mit Kieselgel als Adsorbens konnten diese Nebenprodukte entfernt werden. Bei den neu zu charakterisierenden PCT handelt es sich, bis auf PCT 5 und 29, um unsymmetrische Kongenere, deren symmetrische PCT-Nebenprodukte mittels semi-/präparativer HPLC abgetrennt werden konnten. Die Überprüfung der Produktreinheit erfolgte ebenfalls über GC/MS-SCAN-Messungen, wobei die jeweiligen Massenspektren ermittelt wurden. Die isolierten Produkte wiesen alle eine GC/MS-Reinheit von 100% auf.

Die EI-MS-Daten der fehlenden 17 PCT-Kongenere sind der Tabelle 34 zu entnehmen. Aufgrund der Mehrfachchlorierung spaltete sich das Hauptsignal in ein charakteristisches Muster auf, das durch das natürlich vorkommende $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ -Isotopenverhältnis hervorgerufen wird (Anhang, Abbildung A 1). Die Massenspektren von PCT mit gleichen Chlorsubstitutionsgrad zeigten erwartungsgemäß nahezu identische Fragmentierungsmuster, wodurch diese Isomere mittels Massenspektrometrie alleine nicht unterscheidbar wären. In Abbildung 12 bis 15 sind exemplarisch Massenspektren für die jeweiligen Substitutionsgrade dargestellt. Hauptfragmentierungen waren die Abspaltungen von Chloratomen und Phenylringen. Damit zeigten PCT ähnliche Fragmentierungsreaktionen wie sie bereits bei den PCDD/F und PCB beschrieben wurden [3,115].

5 Ergebnisse und Diskussion

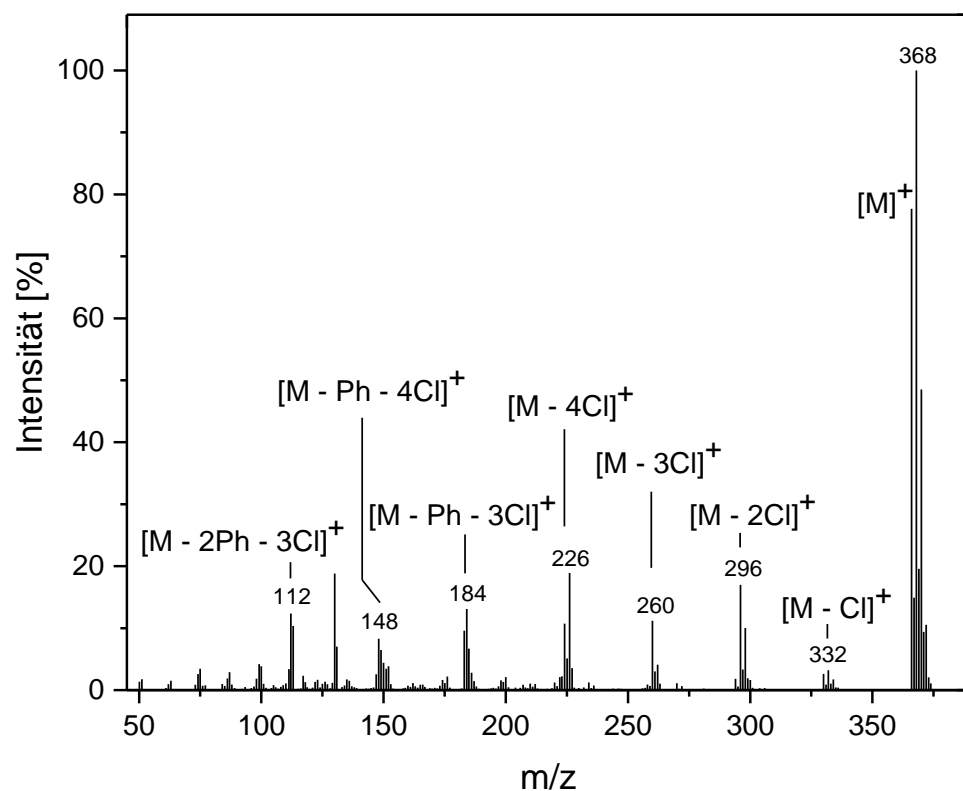


Abbildung 12: EI-Massenspektrum von PCT 2 (tetrachloriert)

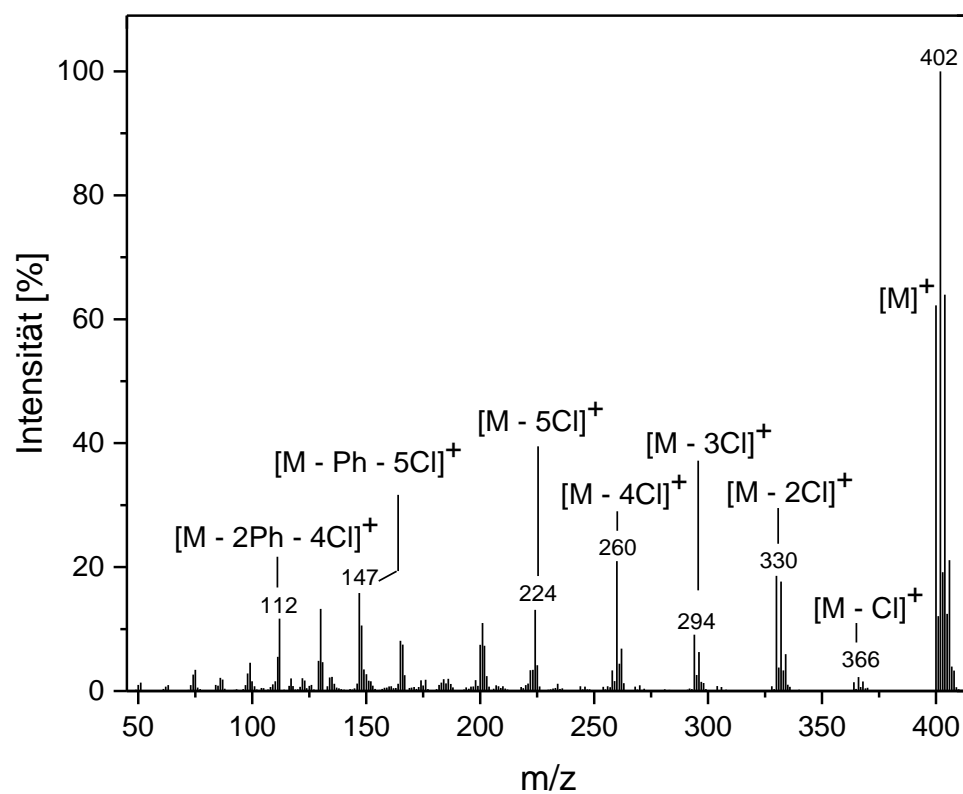


Abbildung 13: EI-Massenspektrum von PCT 21 (pentachloriert)

5 Ergebnisse und Diskussion

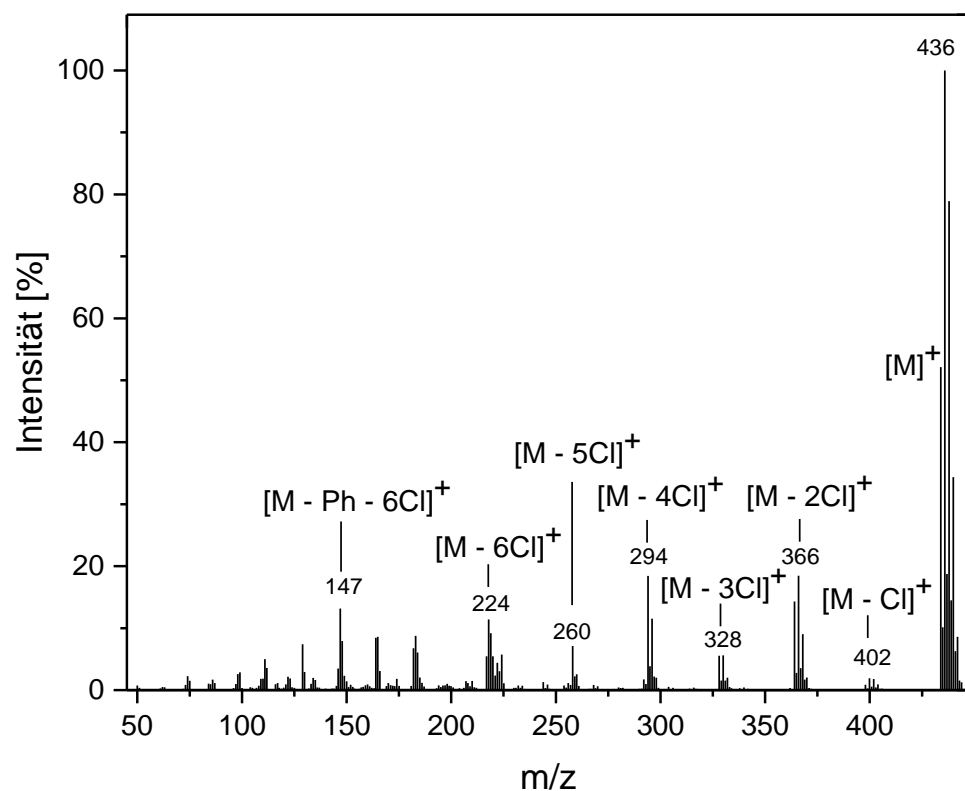


Abbildung 14: EI-Massenspektrum von PCT 26 (hexachloriert)

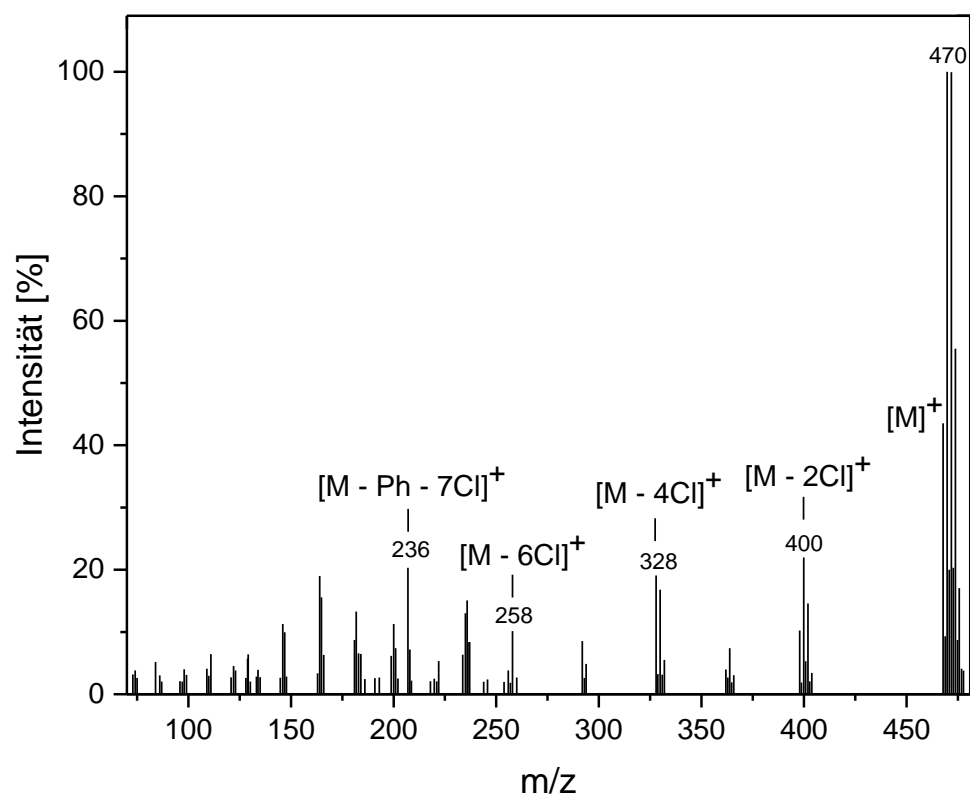


Abbildung 15: EI-Massenspektrum von PCT 29 (heptachloriert)

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 34: EI-MS-Daten der PCT-Kongenere [m/z (%)]

PCT	Masse/Ladung (%)
2	368 (100), 296 (17), 260 (11), 226 (19), 184 (13), 148 (8), 130 (19), 112 (12)
3	368 (100), 296 (19), 260 (11), 226 (18), 184 (13), 148 (12), 130 (16), 112 (15)
5	368 (100), 296 (18), 260 (11), 226 (20), 184 (6), 148 (4), 130 (7), 112 (6)
10	368 (100), 296 (19), 260 (13), 226 (21), 184 (13), 148 (8), 130 (21), 112 (16)
11	368 (100), 296 (20), 260 (10), 226 (21), 184 (8), 148 (9), 130 (15), 112 (15)
13	368 (100), 296 (23), 260 (13), 226 (23), 184 (10), 148 (9), 130 (18), 112 (15)
15	368 (100), 296 (19), 260 (12), 226 (22), 184 (13), 148 (8), 130 (20), 112 (16)
16	368 (100), 296 (16), 260 (9), 226 (19), 184 (10), 148 (8), 130 (11), 112 (17)
17	368 (100), 296 (20), 260 (14), 226 (22), 184 (11), 148 (9), 130 (17), 112 (13)
18	368 (100), 296 (22), 260 (13), 226 (23), 184 (11), 148 (9), 130 (16), 112 (15)
21	402 (100), 330 (19), 294 (9), 260 (21), 224 (13), 201 (11), 165 (8), 147 (16), 130 (13), 112 (12)
22	402 (100), 330 (17), 294 (8), 260 (18), 224 (12), 201 (10), 165 (7), 147 (17), 130 (11), 112 (12)
23	402 (100), 330 (18), 294 (8), 260 (21), 224 (13), 201 (11), 165 (8), 147 (16), 130 (13), 112 (12)
25	402 (100), 330 (17), 294 (8), 260 (18), 224 (10), 201 (9), 165 (7), 147 (11), 130 (10), 112 (8)
26	436 (100), 366 (18), 294 (18), 218 (11), 183 (9), 165 (9), 147 (13), 129 (7)
28	436 (100), 366 (19), 294 (18), 218 (14), 183 (10), 165 (12), 147 (17), 129 (10)
29	470 (100), 400 (22), 328 (19), 258 (10), 236 (15), 200 (11), 182 (13), 164 (19), 146 (11), 129 (6)

5 Ergebnisse und Diskussion

Es wurden ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektren der neu synthetisierten PCT-Kongenere aufgenommen. Neben ^{13}C -DEPT-135 kamen zweidimensionale Verfahren wie $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -COSY, $^1\text{H}, ^1\text{H}$ -NOESY, $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HSQC sowie $^1\text{H}, ^{13}\text{C}$ -HMBC bei der Auswertung zum Einsatz. Die zugeordneten Signale sind mit den ermittelten chemischen Verschiebungen δ , Multiplizitäten und Kopplungskonstanten J in Tabelle 35 bis 38 gelistet. Chemische Verschiebungen, die den gleichen hochgestellten Buchstaben haben, stammen dabei von einem Signal.

Eine weitere Charakterisierung erfolgte mittels ATR-FTIR-Spektroskopie. Die experimentell ermittelten FTIR-Spektren wurden mit berechneten FTIR-Spektren verglichen (Abbildung 16 bis 32). Die experimentell erhaltenen Wellenzahlen sind den mit GAUSSIAN berechneten Wellenzahlen in Tabelle 39 bis 55 gegenübergestellt. Die Bezeichnungen und Zuordnungen der Schwingungen orientierten sich an den GAUSSIAN-Berechnungen für 3,3'',5,5''-Tetrachlor-p-terphenyl mittels B3LYP/6-31G(d) force field bei Grunenberg et al. [95]. Aufgrund der sich ähnelnden Konstitution der PCT ähneln sich auch deren IR-Spektren in Lage und Intensität der einzelnen Banden. Charakteristischste Banden sind insbesondere C-H Deformationsschwingungen in der Ebene im Bereich um 1550 cm^{-1} , die durch die ortho-Wasserstoffatome der endständigen Ringe verursacht werden [95], sowie C-Cl Streckschwingungen im Bereich von 600 bis 800 cm^{-1} . Die berechneten und gemessenen Spektren stimmen in diesen Bereichen gut überein. Geringere Intensitäten zeigten die C-H Valenzschwingungen um 3000 cm^{-1} , wobei hier eine Abweichung von ca. 100 bis 350 cm^{-1} zwischen den berechneten und experimentell erhaltenen Frequenzen beobachtet wird. Der Unterschied zwischen Messung und Berechnung ist in diesem Bereich größer als in den Gerüstschwingungen im Fingerprint-Bereich, weil in den Berechnungen rein harmonische Schwingungen berücksichtigt werden, während im realen Experiment eher anharmonische Schwingungen vorliegen. Zudem werden bei den Einzelmolekülberechnungen die zwischenmolekularen Effekte sowie Wandeffekte, die bei den ATR-FTIR-Messungen vorkommen, nicht berücksichtigt. Nichtsdestotrotz herrschen gute Übereinstimmungen zwischen den berechneten und gemessenen Spektren, wodurch eine Identifizierung allein mittels FTIR-Spektroskopie durch Abgleich mit dem zugehörigen theoretisch berechneten Spektrums möglich wäre.

Somit konnten die übrigen 17 PCT-Kongenere, die bisher in der Literatur nicht beschrieben wurden, vollständig spektroskopisch charakterisiert werden.

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 35: ^1H -NMR-Daten der PCT-Kongeneren (I)

(Angaben der chemischen Verschiebung δ [ppm] und Multiplizität in der erste Zeile sowie der Kopplungskonstante J [Hz] in der zweite Zeile)

	PCT 2	PCT 3	PCT 5	PCT 10	PCT 11	PCT 13
H-2	7,65 ^a (br s)	7,76 (d) 2,2	7,58 ^a (s)	7,66 ^a (m)	7,70 (d) 2,2	7,49 ^a (d) 1,8
H-4	-	-	-	-	-	7,42 (t) 1,8
H-5	-	7,59 (d) 8,3	-	-	7,55 (m)	-
H-6	7,65 ^a (br s)	7,52 (dd) 8,3 / 2,2	7,58 ^a (s)	7,66 ^a (m)	7,46 (dd) 8,4 / 2,2	7,49 ^a (d) 1,8
H-2'	7,62 ^b (m)	7,68 ^a (m)	7,55 ^b (br d) 8,6	7,68 (s)	7,57 (m)	7,56 (t) 1,6
H-3'	7,67 ^c (m)	7,68 ^b (m)	7,59 ^c (br d) 8,6	-	-	-
H-4'	-	-	-	7,61 (br d) 1,7	7,56 (m)	7,58 (t) 1,6
H-5'	7,67 ^c (m)	7,68 ^b (m)	7,59 ^c (br d) 8,6	7,55 (m)	-	-
H-6'	7,62 ^b (m)	7,68 ^a (m)	7,55 ^b (br d) 8,6	7,55 (m)	7,53 (m)	7,52 (t) 1,6
H-2''	7,62 (m)	7,55 ^c (d) 1,9	7,51 ^d (br d) 8,6	7,62 (m)	7,59 (br d) 2,0 / 1,6	7,59 (t) 1,8
H-3''	-	-	7,38 ^e (br d) 8,6	-	-	-
H-4''	7,37 (ddd) 7,8 / 2,0 / 1,1	7,42 (t) 1,9	-	7,38 (ddd) 8,0 / 2,0 / 1,2	7,40 (ddd) 8,0 / 2,0 / 1,6	7,40 (dt) 8,0 / 1,8
H-5''	7,42 (t) 7,8	-	7,38 ^e (br d) 8,6	7,42 (dd) 8,0 / 7,4	7,42 (dd) 8,0 / 7,4	7,42 (dd) 8,0 / 7,2
H-6''	7,53 (ddd) 7,8 / 2,0 / 1,2	7,55 ^c (d) 1,9	7,51 ^d (br d) 8,6	7,53 (ddd) 7,4 / 2,0 / 1,6	7,50 (dt) 7,4 / 1,6	7,50 (dt) 7,2 / 1,8

br : breit

s : Singulett

d : Dublett

dd : Dublett von Dublett

ddd : Dublett von Dublett von Dublett

dt : Dublett von Triplett

t : Triplett

m : Multiplett

Tabelle 36: ^1H -NMR-Daten der PCT-Kongeneren (II)

(Angaben der chemischen Verschiebung δ [ppm] und Multiplizität in der erste Zeile sowie der Kopplungskonstante J [Hz] in der zweite Zeile)

	PCT 15	PCT 16	PCT 17	PCT 18	PCT 21	PCT 22
H-2	7,66 ^a (s)	7,70 (d) 2,3	7,64 ^a (s)	7,48 ^a (d) 1,8	7,63 ^a (s)	7,65 ^a (s)
H-4	-	-	-	7,41 (t) 1,8	-	-
H-5	-	7,55 (m)	-	-	-	-
H-6	7,66 ^a (s)	7,45 (m)	7,64 ^a (s)	7,48 ^a (d) 1,8	7,63 ^a (s)	7,65 ^a (s)
H-2'	7,67 (br t) 1,8	7,56 (m)	7,59 (t) 1,6	7,55 (m)	7,55 (t) 1,7	7,64 (m)
H-4'	7,60 (dt) 7,1 / 1,8	7,55 (t) 1,9	7,62 (m)	7,57 (t) 1,8	7,59 (t) 1,7	7,58 (m)
H-5'	7,54 (m)	-	-	-	-	7,56 (m)
H-6'	7,53 (m)	7,51 (m)	7,49 (m)	7,51 (t) 1,8	7,52 (t) 1,7	7,56 (m)
H-2''	7,58 ^b (m)	7,55 ^a (m)	7,62 ^c (m)	7,55 ^b (d) 8,6	7,59 (m)	7,51 ^b (d) 1,9
H-3''	7,46 ^c (br d) 8,1	7,46 ^b (m)	7,49 ^d (m)	7,46 ^c (d) 8,6	-	-
H-4''	-	-	7,43 (m)	-	7,41 (dt) 8,0 / 1,7	7,40 (t) 1,9
H-5''	7,46 ^c (br d) 8,1	7,46 ^b (m)	7,49 ^d (m)	7,46 ^c (d) 8,6	7,43 (dd) 8,0 / 7,4	-
H-6''	7,58 ^b (m)	7,55 ^a (m)	7,62 ^c (m)	7,55 ^b (d) 8,6	7,50 (dt) 7,4 / 1,7	7,51 ^b (d) 1,9

br : breit

s : Singulett

d : Dublett

dd : Dublett von Dublett

ddd : Dublett von Dublett von Dublett

dt : Dublett von Triplett

t : Triplett

m : Multiplett

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 37: ^1H -NMR-Daten der PCT-Kongeneren (III)

(Angaben der chemischen Verschiebung δ [ppm] und Multiplizität in der erste Zeile sowie der Kopplungskonstante J [Hz] in der zweite Zeile)

	PCT 23	PCT 25	PCT 26	PCT 28	PCT 29
H-2	7,69 (d) 2,1	7,62 ^a (s)	7,62 ^a (s)	7,62 ^a (s)	7,62 ^a (s)
H-5	7,56 (m)	-	-	-	-
H-6	7,45 (dd) 8,3 / 2,1	7,62 ^a (s)	7,62 ^a (s)	7,62 ^a (s)	7,62 ^a (s)
H-2'	7,53 (d) 1,7	7,58 (t) 1,8	7,52 (t) 1,8	7,51 (t) 1,7	7,50 (t) 1,6
H-4'	7,55 (m)	7,54 (m)	7,56 (m)	7,56 (t) 1,7	7,55 ^b (d) 1,6
H-6'	7,54 (m)	7,50 (t) 1,8	7,52 (t) 1,8	7,54 (t) 1,7	7,55 ^b (d) 1,6
H-2''	7,48 ^a (d) 1,8	7,55 ^b (br d) 8,4	7,69 (d) 2,3	7,48b (d) 1,9	7,62 ^a (s)
H-3''	-	7,46 ^c (br d) 8,4	-	-	-
H-4''	7,42 (t) 1,8	-	-	7,43 (t) 1,9	-
H-5''	-	7,46 ^c (br d) 8,4	7,56 (m)	-	-
H-6''	7,48 ^a (d) 1,8	7,55 ^b (br d) 8,4	7,45 (dd) 8,3 / 2,3	7,48 ^b (d) 1,9	7,62 ^a (s)

br : breit

s : Singulett

d : Dublett

dd : Dublett von Dublett

ddd : Dublett von Dublett von Dublett

dt : Dublett von Triplett

t : Triplett

m : Multiplett

Tabelle 38: ^{13}C -NMR-Daten der PCT-Kongenere
(Angabe der chemischen Verschiebung δ [ppm])

	PCT 2	PCT 3	PCT 5	PCT 10	PCT 11	PCT 13	PCT 15	PCT 16	PCT 17
C-1	140,3	140,1	140,4	140,8	139,3	142,3	140,9	139,4	139,6
C-2	127,0 ^a	128,7	127,5 ^a	127,2 ^a	128,9	125,6 ^a	127,2 ^a	128,9	127,2 ^a
C-3	134,3 ^b	132,7	134,3 ^b	134,3 ^b	132,9	135,4 ^b	134,3 ^b	132,9	134,5 ^b
C-4	130,1	131,6	130,1	130,2	132,2	127,9	130,2	132,2	130,8
C-5	134,3 ^b	130,7	134,3 ^b	134,3 ^b	130,9	135,4 ^b	134,3 ^b	130,9	134,5 ^b
C-6	127,0 ^a	126,3	127,5 ^a	127,2 ^a	126,4	125,6 ^a	127,2 ^a	126,4	127,2 ^a
C-1'	136,8	138,5	136,6	138,2	140,9	140,6	138,1	140,9	139,6
C-2'	127,3 ^c	127,5 ^a	127,3 ^c	125,6	124,0	124,1	125,4	123,8	124,0
C-3'	127,7 ^d	127,6 ^b	127,0 ^d	140,5	142,1	142,1	140,7	142,3	143,7
C-4'	139,7	137,9	139,9	127,4	126,7	127,0	127,2	126,6	127,2
C-5'	127,7 ^d	127,6 ^b	127,0 ^d	129,7	135,3	135,3	129,7	135,3	135,3
C-6'	127,3 ^c	127,5 ^a	127,3 ^c	126,4	126,3	126,4	126,1	126,0	125,6
C-1''	141,7	143,1	138,4	142,2	141,0	140,9	138,8	137,6	138,9
C-2''	127,0	125,4 ^c	128,2 ^e	127,2	127,2	127,2	128,4 ^c	128,4 ^a	127,1 ^c
C-3''	134,5	135,2 ^d	129,0 ^f	134,5	134,7	134,7	129,0 ^d	129,1 ^b	129,0 ^d
C-4''	127,6	127,3	133,6	127,7	128,2	128,2	133,6	134,2	128,3
C-5''	130,2	135,2 ^d	129,0 ^f	130,2	130,3	130,3	129,0 ^d	129,1 ^b	129,0 ^d
C-6''	125,2	125,4 ^c	128,2 ^e	125,4	125,4	125,4	128,4 ^c	128,4 ^a	127,1 ^c
	PCT 18	PCT 21	PCT 22	PCT 23	PCT 25	PCT 26	PCT 28	PCT 29	
C-1	142,3	139,4	140,6	139,1	139,5	139,3	139,2	139,1 ^a	
C-2	125,6 ^a	127,2 ^a	127,2 ^a	128,9	127,2 ^a	127,2 ^a	127,2 ^a	127,2 ^b	
C-3	135,3 ^b	134,6 ^b	134,4 ^b	133,0	134,5 ^b	134,6 ^b	134,6 ^b	135,7 ^c	
C-4	127,9	131,0	130,4	132,3	130,9	131,1	131,1	134,6 ^d	
C-5	135,3 ^b	134,6 ^b	134,4 ^b	130,9	134,5 ^b	134,6 ^b	134,6 ^b	135,7 ^c	
C-6	125,6 ^a	127,2 ^a	127,2 ^a	126,4	127,2 ^a	127,2 ^a	127,2 ^a	127,2 ^b	
C-1'	140,6	139,8	138,3	141,1	139,8	140,0	140,0	140,2 ^e	
C-2'	123,9	123,9	125,5	123,9	123,8	123,8	123,9	123,7	
C-3'	142,3	142,3	139,3	140,8	142,4	141,2	141,0	140,2 ^e	
C-4'	126,9	127,2	127,3	126,9	127,1	127,1	126,8	127,0 ^f	
C-5'	135,3	135,4	129,8	135,5	135,4	135,6	135,6	131,2	
C-6'	126,1	126,2	127,0	126,7	126,0	126,5	126,8	127,0 ^f	
C-1''	137,5	140,8	143,4	142,1	137,5	139,0	142,0	139,1 ^a	
C-2''	128,4 ^c	127,2	125,7 ^c	125,7 ^a	128,4 ^c	128,9	125,7 ^c	127,2 ^b	
C-3''	129,1 ^d	134,7	135,2 ^d	135,4 ^b	129,1 ^d	133,0	135,4 ^d	135,7 ^c	
C-4''	134,2	128,3	127,5	128,0	134,3	132,4	128,1	134,6 ^d	
C-5''	129,1 ^d	130,3	135,2 ^d	135,4 ^b	129,1 ^d	130,9	135,4 ^d	135,7 ^c	
C-6''	128,4 ^c	125,4	125,7 ^c	125,7 ^a	128,4 ^c	126,5	125,7 ^c	127,2 ^b	

5 Ergebnisse und Diskussion

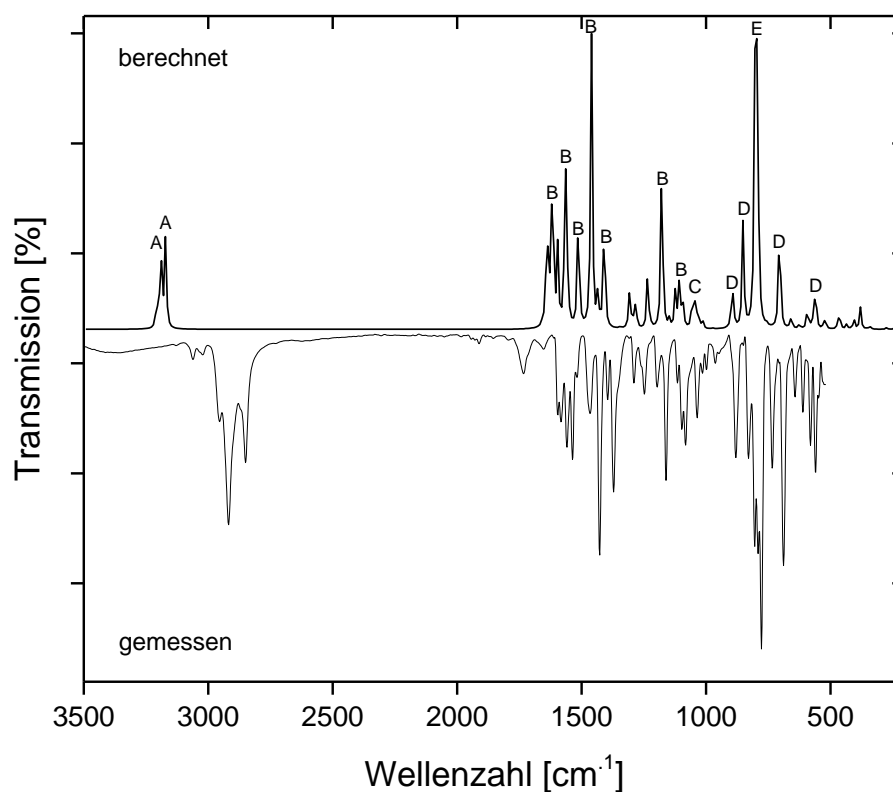


Abbildung 16: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 2

A-E: s. Tabelle 39; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 39: IR-Daten von PCT 2

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3061, 3022, 2918, 2850	3188, 3172	A
1582, 1535, 1466, 1427, 1371, 1161, 1082	1620, 1564, 1516, 1460, 1412, 1180, 1108	B
1035	1044	C
879, 829	892, 852	D
777	796	E
689, 560	708, 564	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

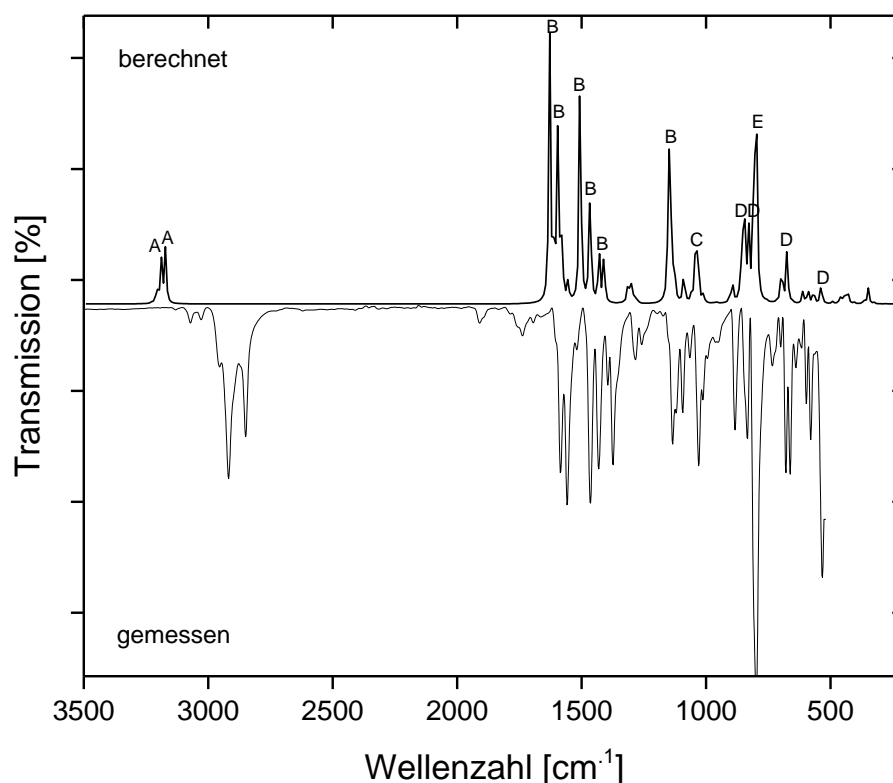


Abbildung 17: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 3

A-E: s. Tabelle 40; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 40: IR-Daten von PCT 3

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3072, 3029, 2918, 2850	3188, 3172	A
1585, 1558, 1465, 1432, 1374, 1134	1628, 1596, 1508, 1468, 1428, 1148	B
1030	1036	C
884, 834	844, 828	D
798	796	E
662, 533	676, 540	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

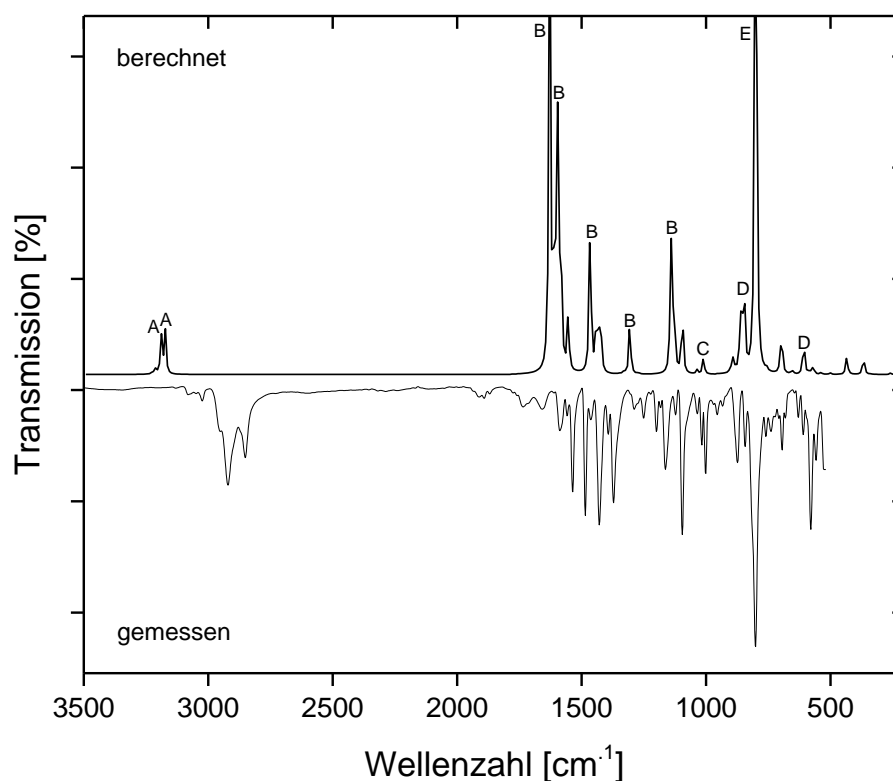


Abbildung 18: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 5
A-E: s. Tabelle 41; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 41: IR-Daten von PCT 5

Wellenzahl [cm ⁻¹] gemessen	Wellenzahl [cm ⁻¹] berechnet	*
3081, 3024, 2921, 2851	3188, 3172	A
1536, 1485, 1429, 1372, 1096	1628, 1596, 1468, 1308, 1140	B
1001	1012	C
874	844	D
801	804	E
695, 579	700, 604	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm⁻¹ bis 3000 cm⁻¹)
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm⁻¹ bis 1000 cm⁻¹)
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm⁻¹)
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene (< 1000 cm⁻¹)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm⁻¹)

5 Ergebnisse und Diskussion

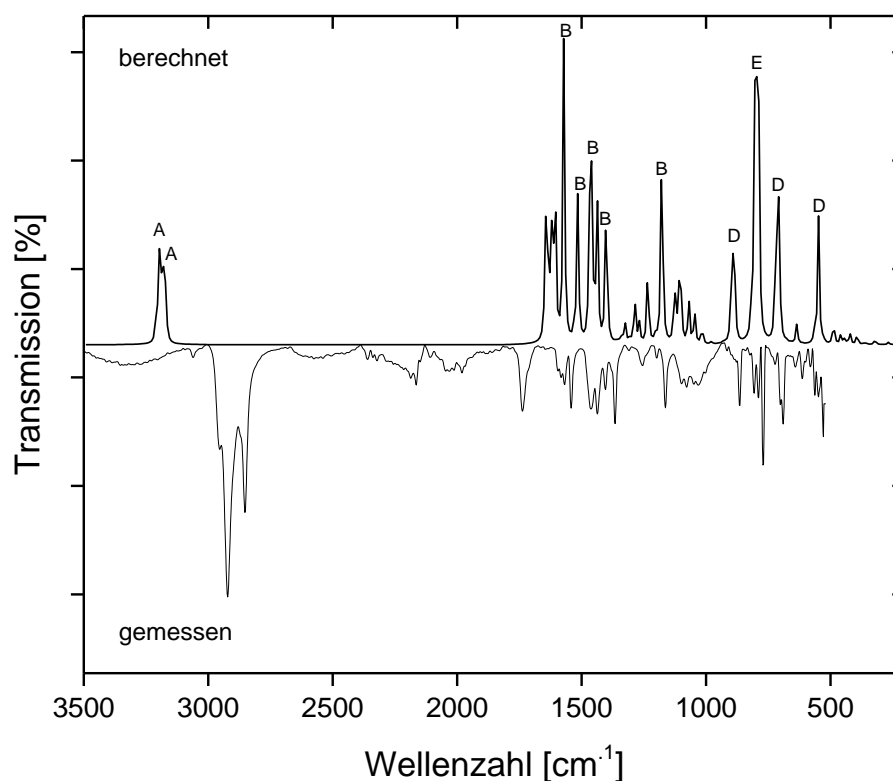


Abbildung 19: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 10
(Geringe Probenmenge verursachte die geringen Intensitäten des gemessenen Spektrums), A-E: s. Tabelle 42; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 42: IR-Daten von PCT 10

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
2922, 2852	3196, 3180	A
1542, 1462, 1437, 1366, 1163	1572, 1516, 1460, 1404, 1180	B
865	892	D
771	796	E
690, 529	708, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

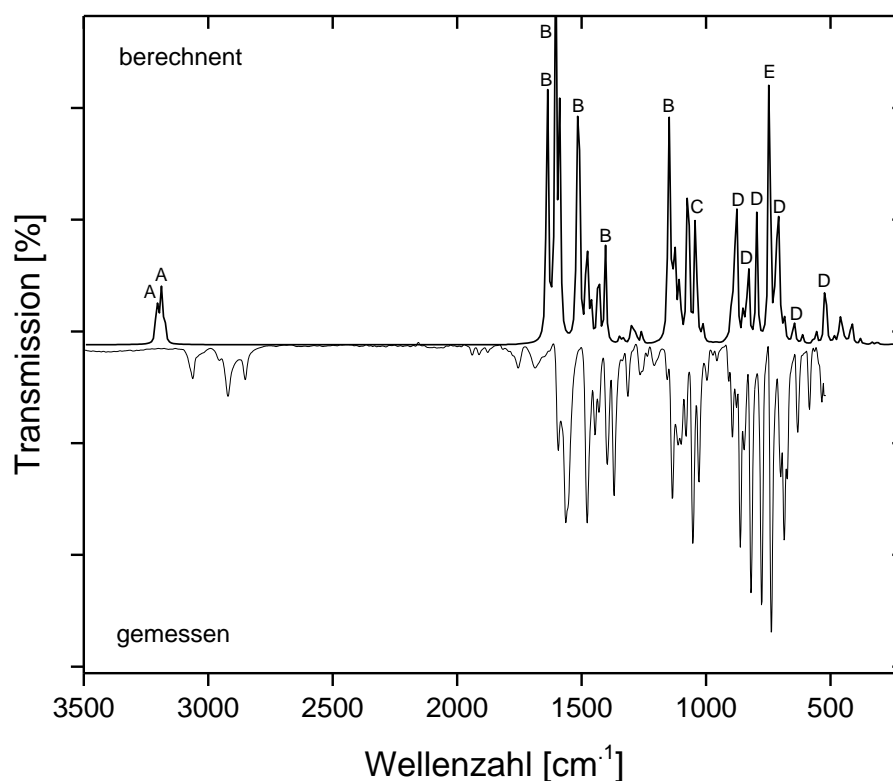


Abbildung 20: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 11
A-E: s. Tabelle 43; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 43: IR-Daten von PCT 11

Wellenzahl [cm ⁻¹] gemessen	Wellenzahl [cm ⁻¹] berechnet	*
3062, 2921, 2851	3204, 3188	A
1595, 1563, 1478, 1370, 1135	1636, 1604, 1516, 1404, 1148	B
1053	1044	C
862, 819, 777	876, 828, 796	D
738	748	E
686, 632, 585	708, 644, 524	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm⁻¹ bis 3000 cm⁻¹)
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm⁻¹ bis 1000 cm⁻¹)
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm⁻¹)
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene (< 1000 cm⁻¹)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm⁻¹)

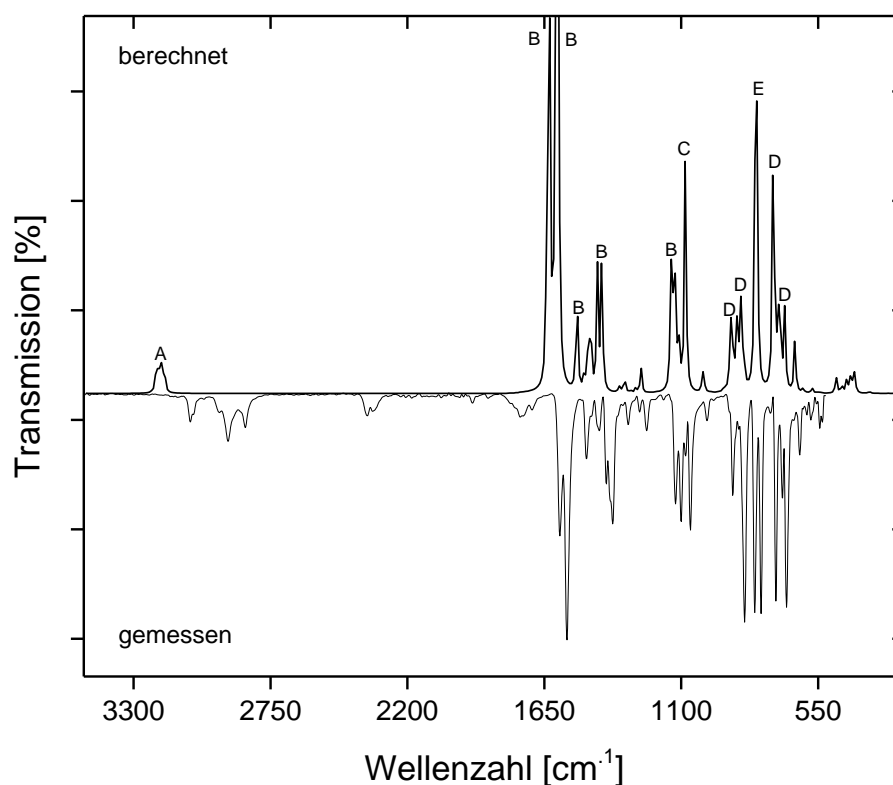


Abbildung 21: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 13
A-E: s. Tabelle 44; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 44: IR-Daten von PCT 13

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3072, 2920, 2851	3188	A
1587, 1559, 1481, 1375, 1100	1628, 1604, 1516, 1420, 1140	B
1063	1084	C
893, 845	900, 860	D
804	796	E
719, 677	732, 684	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

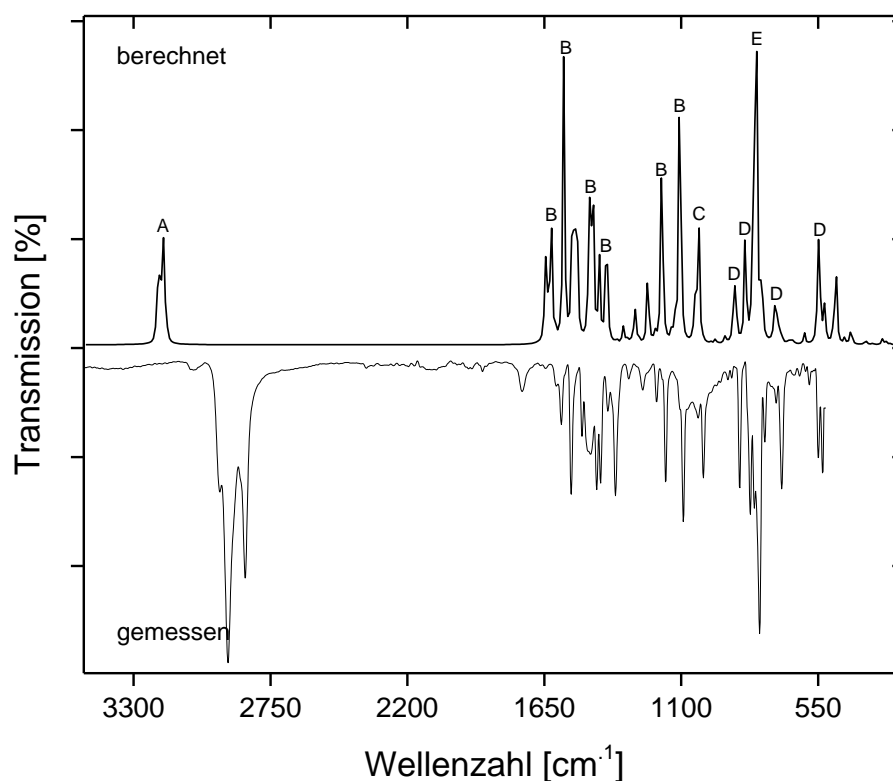


Abbildung 22: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 15
A-E: s. Tabelle 45; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 45: IR-Daten von PCT 15

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
2921, 2852	3180	A
1582, 1542, 1424, 1364, 1162, 1091	1620, 1572, 1468, 1428, 1180, 1108	B
1011	1028	C
865, 822	884, 844	D
785	796	E
696, 531	724, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

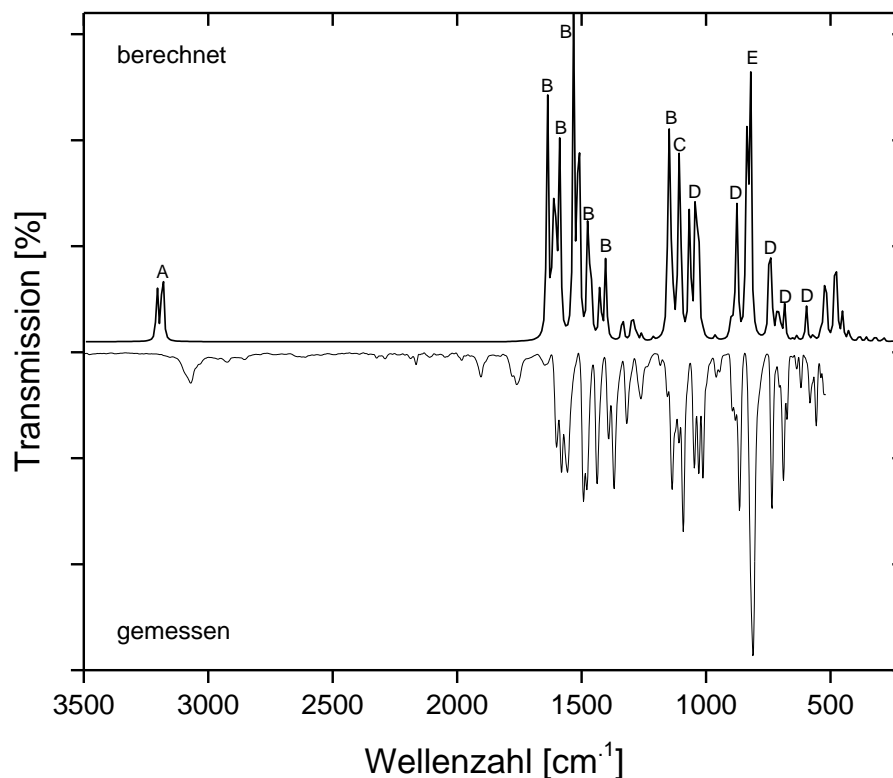


Abbildung 23: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 16
A-E: s. Tabelle 46; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 46: IR-Daten von PCT 16

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3070	3180	A
1601, 1581, 1492, 1438, 1370, 1137	1636, 1588, 1532, 1476, 1404, 1148	B
1092	1108	C
1013, 866	1044, 876	D
811	820	E
735, 689, 557	740, 684, 596	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

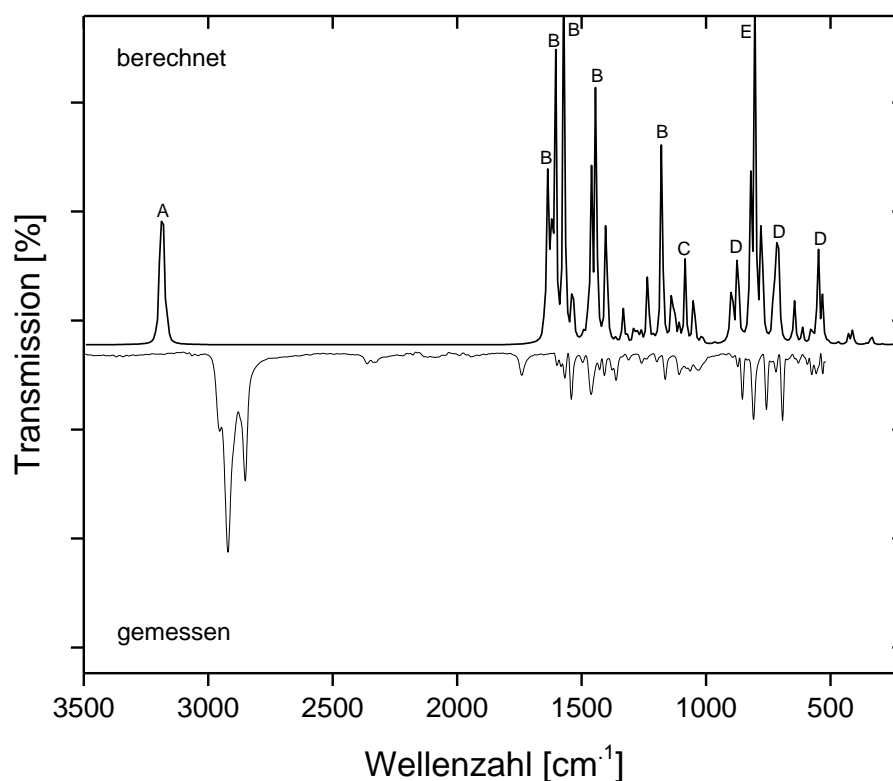


Abbildung 24: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 17
 (Geringe Probenmenge verursachte die geringen Intensitäten des gemessenen Spektrums), A-E: s. Tabelle 47; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 47: IR-Daten von PCT 17

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
2921, 2851	3180	A
1568, 1541, 1462, 1362, 1164	1636, 1604, 1572, 1444, 1180	B
1064	1084	C
854	876	D
809	804	E
757, 693	716, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

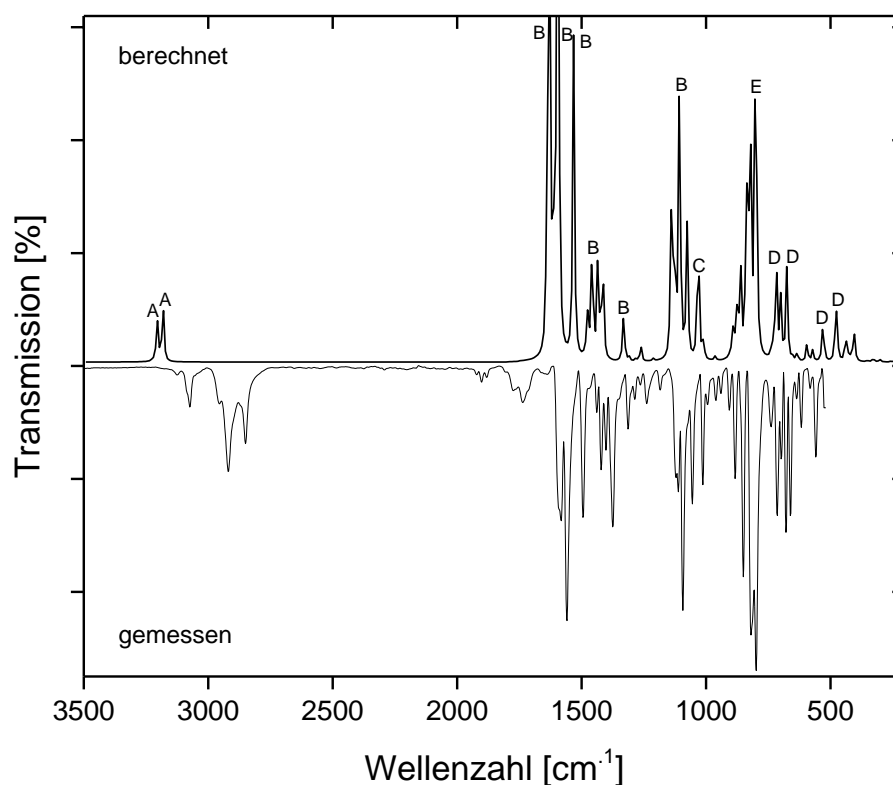


Abbildung 25: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 18
A-E: s. Tabelle 48; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 48: IR-Daten von PCT 18

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3074, 2919, 2850	3204, 3180	A
1582, 1559, 1494, 1421, 1375, 1313	1628, 1596, 1532, 1460, 1332, 1108	B
1013	1028	C
883, 850	860, 820	D
799	804	E
698, 679, 661, 559	716, 676, 532, 476	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

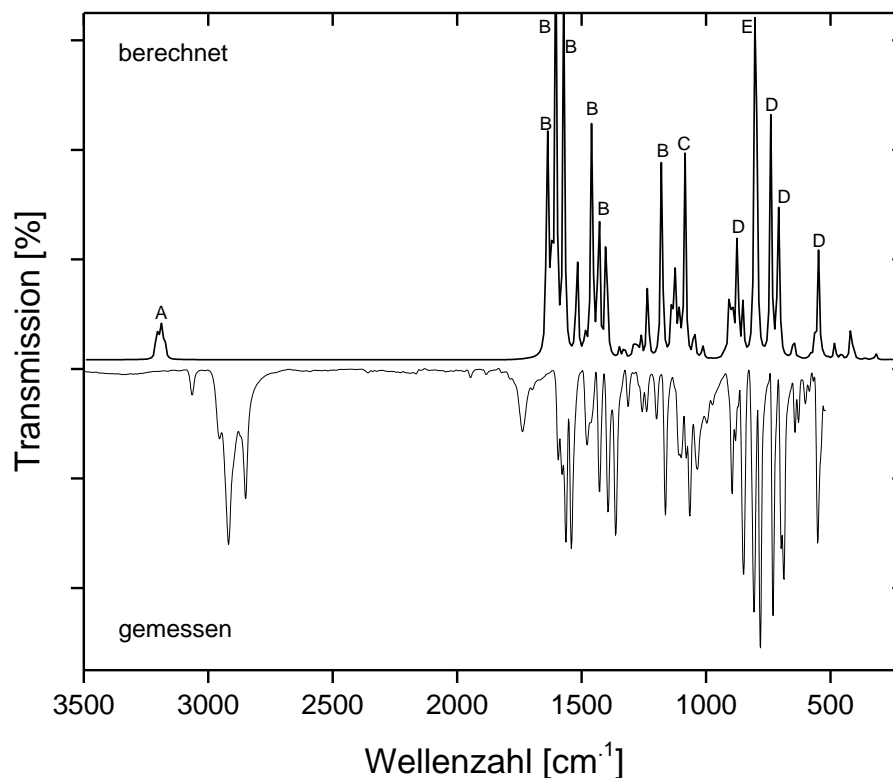


Abbildung 26: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 21
A-E: s. Tabelle 49; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 49: IR-Daten von PCT 21

Wellenzahl [cm ⁻¹] gemessen	Wellenzahl [cm ⁻¹] berechnet	*
3065, 2918, 2850	3188	A
1563, 1541, 1428, 1394, 1363, 1136	1636, 1604, 1572, 1460, 1428, 1180	B
1065	1084	C
895, 849, 807	876	D
782	804	E
731, 687, 551	740, 708, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm⁻¹ bis 3000 cm⁻¹)
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm⁻¹ bis 1000 cm⁻¹)
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm⁻¹)
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene (< 1000 cm⁻¹)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm⁻¹)

5 Ergebnisse und Diskussion

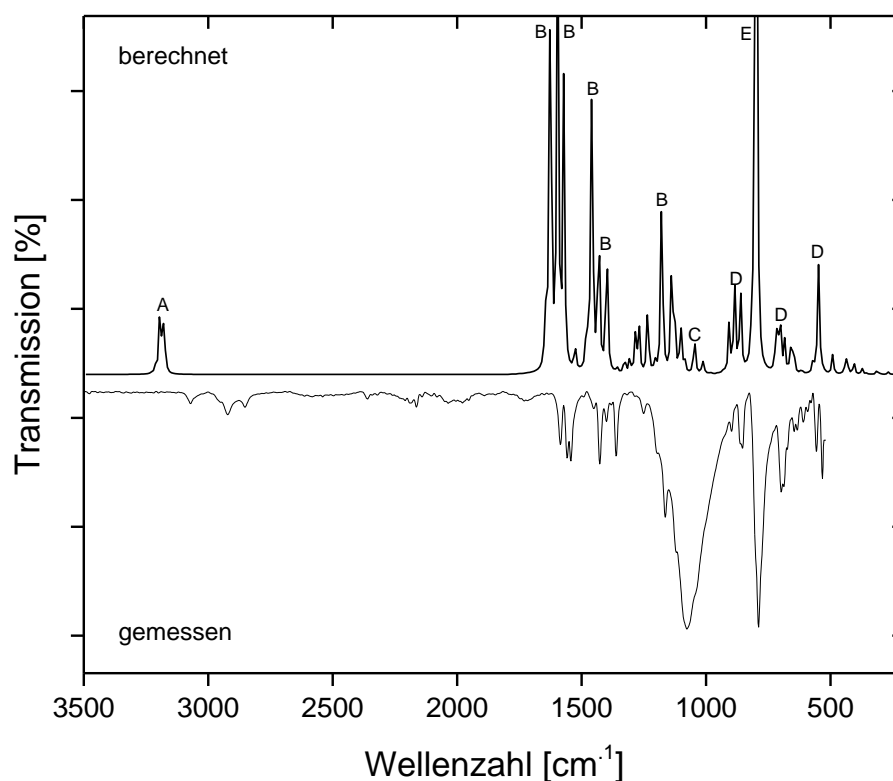


Abbildung 27: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 22
A-E: s. Tabelle 50; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 50: IR-Daten von PCT 22

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3071, 2922, 2853	3196	A
1558, 1543, 1427, 1361, 1164	1628, 1596, 1460, 1428, 1180	B
1077	1044	C
854	884	D
789	804	E
698, 533	700, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

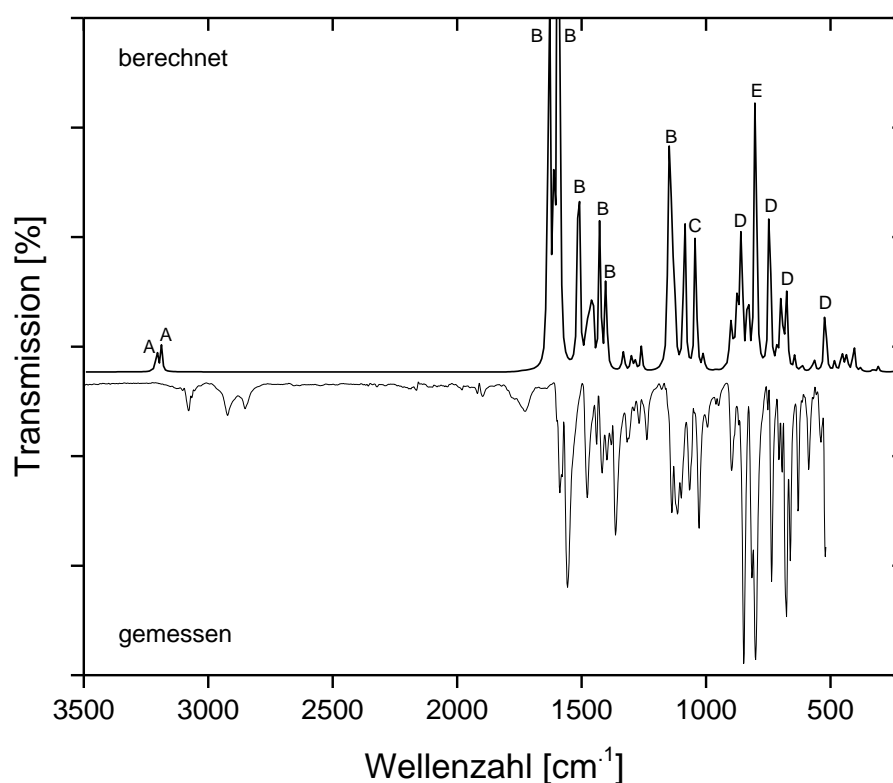


Abbildung 28: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 23
A-E: s. Tabelle 51; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 51: IR-Daten von PCT 23

Wellenzahl [cm ⁻¹] gemessen	Wellenzahl [cm ⁻¹] berechnet	*
3079, 2922, 2852	3204, 3188	A
1587, 1557, 1477, 1418, 1363, 1114	1628, 1588, 1508, 1428, 1404, 1148	B
1028	1044	C
898, 849	860	D
801	804	E
737, 677, 521	748, 676, 524	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm⁻¹ bis 3000 cm⁻¹)
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm⁻¹ bis 1000 cm⁻¹)
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm⁻¹)
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene (< 1000 cm⁻¹)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm⁻¹)

5 Ergebnisse und Diskussion

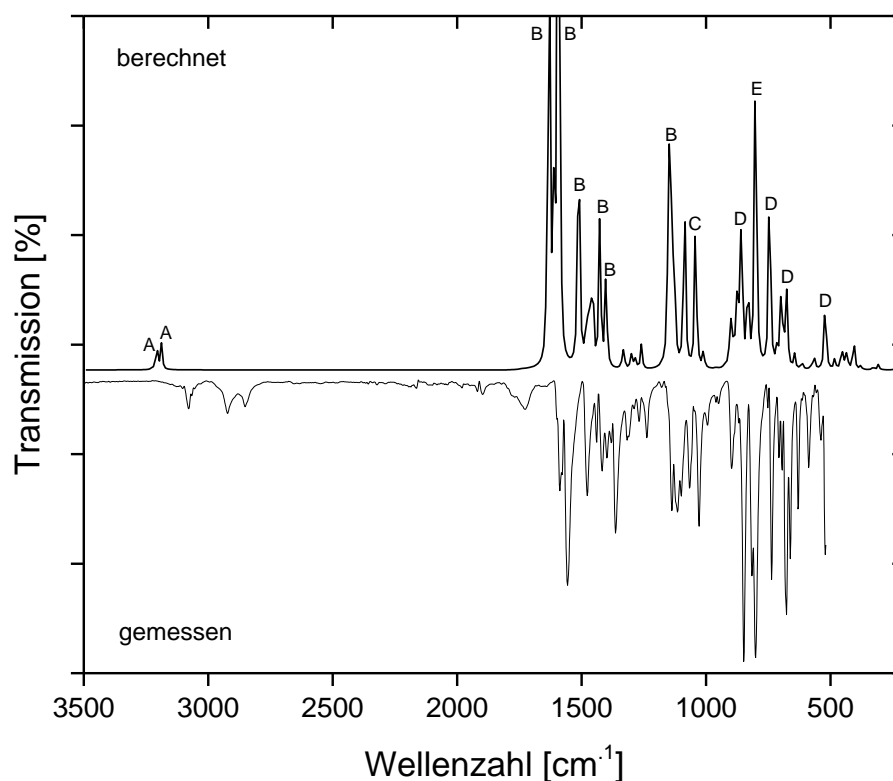


Abbildung 29: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 25
A-E: s. Tabelle 52; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 52: IR-Daten von PCT 25

Wellenzahl [cm ⁻¹] gemessen	Wellenzahl [cm ⁻¹] berechnet	*
3068, 2920, 2851	3204, 3180	A
1542, 1493, 1422, 1362, 1165, 1091	1636, 1572, 1532, 1452, 1180, 1108	B
1011	1028	C
880, 854	876, 836	D
811	804	E
727, 688, 551	740, 548, 476	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm⁻¹ bis 3000 cm⁻¹)
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm⁻¹ bis 1000 cm⁻¹)
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm⁻¹)
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene (< 1000 cm⁻¹)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm⁻¹)

5 Ergebnisse und Diskussion

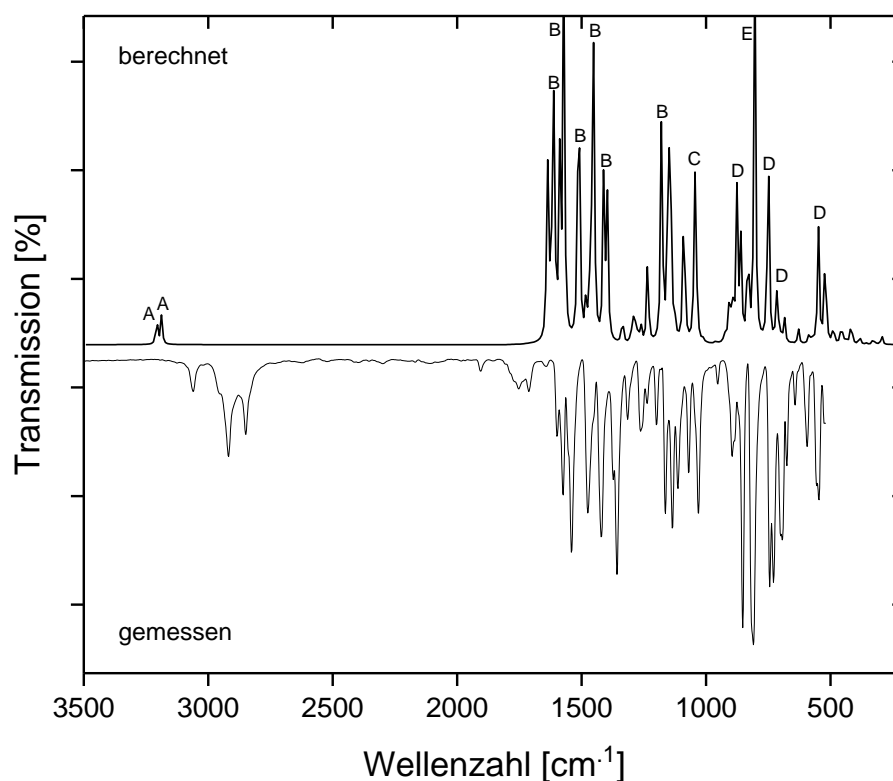


Abbildung 30: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 26

A-E: s. Tabelle 53; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 53: IR-Daten von PCT 26

Wellenzahl [cm ⁻¹] gemessen	Wellenzahl [cm ⁻¹] berechnet	*
3061, 2919, 2849	3204, 3188	A
1574, 1540, 1475, 1421, 1358, 1135	1612, 1572, 1508, 1452, 1412, 1180	B
1031	1044	C
853	876	D
810	804	E
744, 694, 547	748, 716, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm⁻¹ bis 3000 cm⁻¹)
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm⁻¹ bis 1000 cm⁻¹)
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm⁻¹)
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene (< 1000 cm⁻¹)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm⁻¹)

5 Ergebnisse und Diskussion

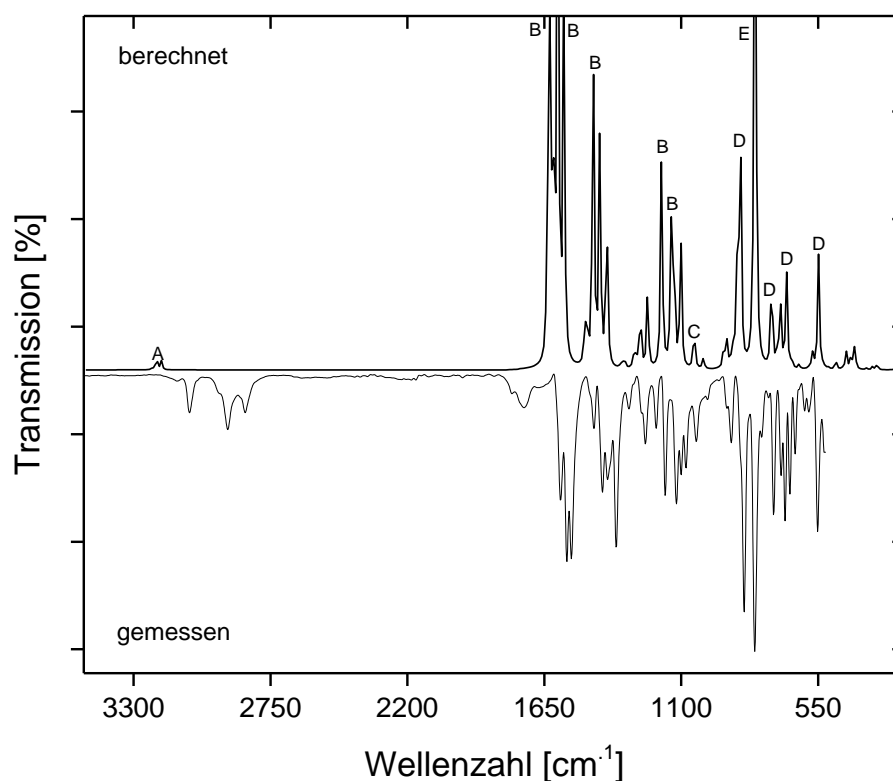


Abbildung 31: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 28
A-E: s. Tabelle 54; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 54: IR-Daten von PCT 28

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3075, 2921, 2852	3188	A
1585, 1559, 1361, 1164, 1119	1628, 1572, 1452, 1180, 1140	B
1039	1044	C
847	860	D
804	804	E
728, 682, 552	740, 676, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5 Ergebnisse und Diskussion

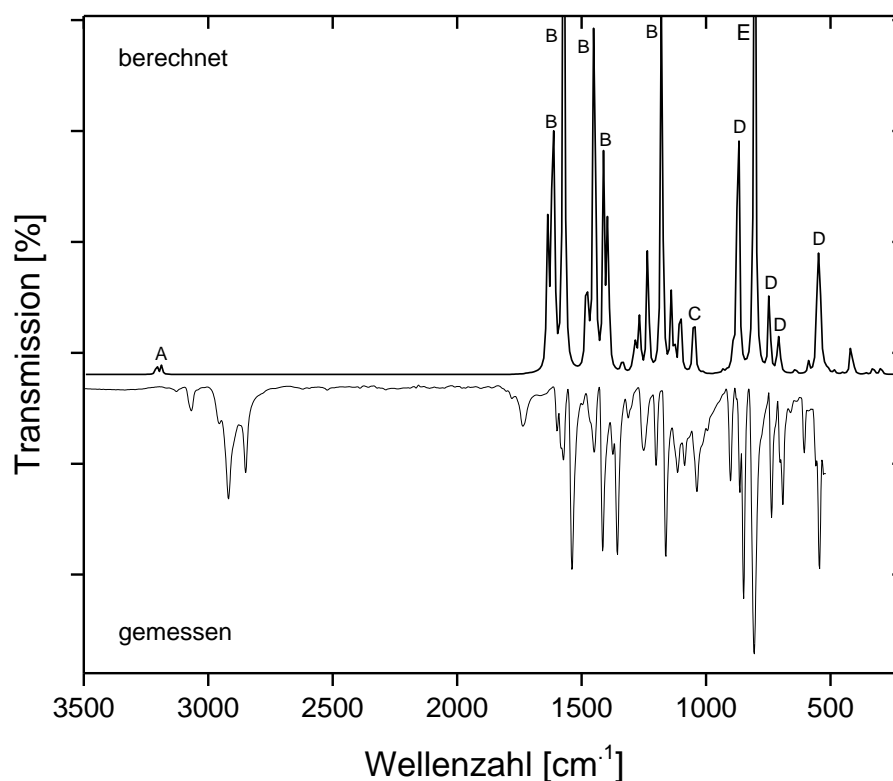


Abbildung 32: Gemessenes und berechnetes FTIR-Spektrum von PCT 29
A-E: s. Tabelle 55; berechnetes Spektrum [82]

Tabelle 55: IR-Daten von PCT 29

Wellenzahl [cm^{-1}] gemessen	Wellenzahl [cm^{-1}] berechnet	*
3068, 2919, 2850	3188	A
1576, 1538, 1415, 1356, 1162	1612, 1572, 1452, 1412, 1180	B
1037	1044	C
864, 849	868	D
807	804	E
737, 691, 545	748, 708, 548	D

*Schwingungsart:

- A C-H Valenzschwingung (3100 cm^{-1} bis 3000 cm^{-1})
- B C-H Deformationsschwingung in der Ebene (1600 cm^{-1} bis 1000 cm^{-1})
- C Ring-Deformationsschwingung in der Ebene (um 1000 cm^{-1})
- D C-H Deformationsschwingung außerhalb der Ebene ($< 1000 \text{ cm}^{-1}$)
- E C-Cl Streckschwingung (600 bis 800 cm^{-1})

5.1.1 Isotopenmarkierung der PCT-Referenzsubstanzen

Um die entwickelte PCT-Analysenmethode durch eine Isotopenverdünnungsanalyse zu erweitern, wurde versucht, eine Isotopenmarkierung der PCT-Referenzsubstanzen vorzunehmen. Die ^{13}C -Markierung des Phenylgerüsts wurde von vornherein ausgeschlossen, da dieses im Nachhinein nicht mehr möglich ist und eine neue Ringsynthese bedeutet hätte. Der nachträgliche Austausch der Wasserstoffatome gegen Deuterium ist gemäß Literatur ein effizienter und günstiger Weg, um isotopenmarkierte Standards zu erhalten. Die deuterierten PCT-Standards würden zu den nicht deuterierten Ausgangsverbindungen Massendifferenzen zwischen 7 und 10 u aufweisen und könnten dadurch massenspektrometrisch eindeutig unterschieden werden. Sie sollten ähnliche chemische und physikalische Eigenschaften aufweisen und sich somit auch in der Chromatographie nahezu identisch verhalten [96]. In den ersten drei Deuterierungsexperimenten wurde zunächst ein H/D-Austausch ohne Zusatz von Säure, Base oder eines Metallkatalysators probiert, da Deuteriumoxid aufgrund seines Autoprotolysegleichgewichts alleine als Säure oder Base fungieren kann. Vorbild waren hierfür u.a. die Arbeiten von Edlund und Bergson, die durch mehrfaches Erhitzen von 2-Indanon in Deuteriumoxid das [1,1,3,3-D₄]2-Indanon erhielten [116], sowie von Junk und Catallo, die einen nahezu vollständigen H/D-Austausch von Phenanthren im Autoklaven (24 h bei 420 bis 430 °C) erreichten [117]. Für diese Versuchsreihen wurde die PCT-Testsubstanz (2,2'',5,5''-Tetra-*p*-terphenyl) in verschiedenen deuterierten Lösungsmitteln gelöst, mit Deuteriumoxid überschichtet und in der Mikrowelle bei 150 °C für 20, 40 und 60 min behandelt. Diese Versuche führten nicht zum gewünschten isotopenmarkierten Zielprodukt. Die CH-Positionen im Testmolekül schienen nicht hinreichend CH-acid zu sein, um einen Angriff des Deuteriumoxids zu ermöglichen und/oder die Reaktionsbedingungen waren zu milde gewählt.

In der Arbeit von Geiss et al. konnten *o*-Terphenyl-D14 sowie *m*-Terphenyl-D14 synthetisiert werden, indem die Ausgangsverbindungen in Deuteriumoxid mit Platin mehrere Tage bei 220 bis 240 °C gerührt wurden [118]. Daher wurde beim vierten Deuterierungsversuch die PCT-Testsubstanz in deuteriertem Dichlormethan gelöst, mit einem Platin/ γ -Aluminiumoxid-Katalysator sowie Deuteriumoxid versetzt und mittels Mikrowelle bei 150 °C 60 min behandelt. Auch hier führten die Reaktionsbedingungen zu keiner Deuterierung des Ausgangsmoleküls.

5 Ergebnisse und Diskussion

Im letzten Versuch wurde in Anlehnung an Hawthorne et al. gearbeitet, die in ihrer Arbeit Aroclor 1254, ein technisches PCB-Gemisch, mit einem Deuterierungsreagenz bestehend aus Deuteriumoxid, 4% deuterierter Salzsäure und 10 mg/mL Chrom, bei 300 °C 15 h in einem Bombenrohr aus Glas umsetzten [119]. Dieses Deuterierungsreagenz kam ebenfalls unter Verwendung der Mikrowelle zum Einsatz. Die PCT-Testsubstanz wurde dabei ungelöst sowie gelöst in deuteriertem und nicht deuteriertem Dichlormethan bei 150 °C für 60 min behandelt. Hier fand ebenfalls kein H/D-Austausch statt.

Da die beschriebenen Ansätze nicht zum Erfolg geführt haben und aus zeitlichen Gründen nicht fortgesetzt werden konnten, herrscht weiterer Forschungsbedarf auf diesem Gebiet. Die Anforderungen an die Reaktionsbedingungen für die vollständige Deuterierung sind für jede Stoffgruppe individuell, so auch für die PCT. Die optimale Reaktionsführung ist daher nicht vorhersagbar und muss experimentell ermittelt werden. Weitere Ansätze hierfür wären in der Literatur zu finden. So konnten unpolare Aromaten wie z.B. Naphthalin, Isopropylbenzol, Chlorbenzol sowie p-Terphenyl mittels Benzol-D₆ in Gegenwart von Lewis-Säuren wie Molybdänpentachlorid oder Ethylaluminiumdichlorid bei Raumtemperatur vollständig deuteriert werden [96,120]. Ein weiterer Ansatz wäre die heterogene Katalyse. Hohe Aktivitäten im Bereich des H/D-Austauschs weisen, neben dem oben verwendeten Platin, auch Palladium, Rhodium, Nickel und Cobalt auf [121,122]. Der Einsatz der Mikrowelle sollte dabei bevorzugt bleiben, da hiermit gemäß Literatur die Reaktionszeiten verkürzt und höhere Ausbeuten erzielt werden können [123–126].

5.2 GC/MS-Methodenoptimierung

Die optimierten GC/MS-Parameter der PCT-Analysenmethode werden in der Tabelle 56 vorgestellt.

Tabelle 56: GC/MS Parameter der PCT-Analysenmethode

GC: 7890B GC; Agilent Technologies, Deutschland	
Injektor:	Kaltaufgabesystem KAS 4, Fa. Gerstel, Deutschland splitless, 50 mL/min nach 2 min
Injektorprogramm:	80 °C (1 min), 12 °C/s, 300 °C (5 min)
Injektionsvolumen:	2 µL
Säule:	DB-5, 60 m; 0,25 mm Id.; 0,25 µm Filmdicke
Säulenfluss:	1 mL/min Helium, constant flow
Ofenprogramm:	60 °C (2 min), 100 °C/min, 200 °C, 0,5 °C/min, 300 °C (30 min)
MS: 5977B MSD; Agilent Technologies, Deutschland	
Transferline:	300 °C
Ionisation:	Elektronenstoß, 70 eV
Ionenquelle:	230 °C
Quadrupol:	150 °C
Modus:	SIM
Massen bis 25 min [m/z]:	263,90; 265,90; 267,90 (TCN)
Massen bis 131 min [m/z]:	365,95; 367,95; 369,95 (Tetra); 399,90; 401,90; 403,90 (Penta)
Massen bis 144 min [m/z]:	399,90; 401,90; 403,90 (Penta); 433,90; 435,90; 437,90 (Hexa)
Massen bis 154 min [m/z]:	469,80; 471,80; 473,80 (Hepta)
Verweilzeit pro Masse	200 ms

Da die 29 PCT sich chemisch sehr ähneln und die Siedepunkte sich kaum unterscheiden, musste eine 60 m GC-Säule zum Einsatz kommen, um eine ausreichende Trennung zu erzielen. Außerdem wurde für die zweite Rampe im Temperaturprogramm des Ofens eine langsame Aufheizrate von 0,5 °C/min eingestellt, was eine Gesamtlaufzeit einer Messung von 154 min hervorrief. Dennoch konnten PCT 21 und 22 gaschromatographisch nicht getrennt werden, weshalb sie im Folgenden als ein Signal behandelt werden. In der Abbildung 33 ist exemplarisch das Gaschromatogramm des in Kapitel 4.1.3 hergestellten 100 pg/µL PCT-Mischstandards dargestellt. Die dazugehörigen Retentionszeiten sind in Tabelle 57 aufgelistet. Erwartungsgemäß eluieren die PCT entsprechend des zunehmenden Chlorierungsgrades

5 Ergebnisse und Diskussion

nacheinander. Ausnahmen bilden hier lediglich die pentachlorierten Kongenere PCT 24 und 7, die innerhalb der Tetra-Gruppe bzw. der Hexa-Gruppe eluieren. Innerhalb der Chlorierungsgrade eluieren, abgesehen von einigen Ausnahmen, die *m*-PCT (PCT 9-29) bevorzugt vor den *p*-PCT (PCT 1-8).

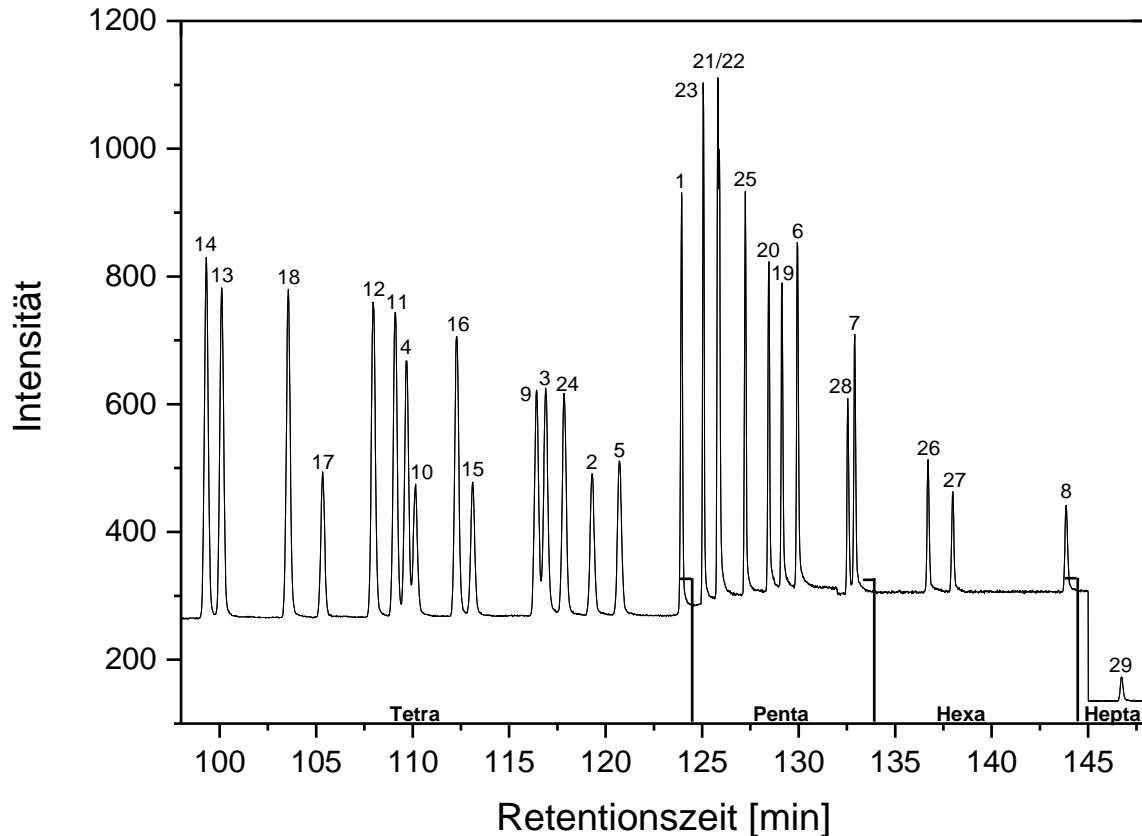


Abbildung 33: Gaschromatogramm eines 100 pg/μL PCT-Mischstandards

Tabelle 57: Retentionszeiten (RT) der 29 PCT-Kongenere

PCT	RT [min]	PCT	RT [min]	PCT	RT [min]
1	124,01	11	109,30	21	125,95
2	119,51	12	108,29	22	125,87
3	117,08	13	100,31	23	125,14
4	109,87	14	99,50	24	118,05
5	120,93	15	113,27	25	127,29
6	130,00	16	112,46	26	136,77
7	133,00	17	105,54	27	138,06
8	143,98	18	103,76	28	132,63
9	116,64	19	129,19	29	146,81
10	110,32	20	128,50		

5.3 Methodenvalidierung

Eine Analysenmethode ist validiert, wenn nachgewiesen wurde, dass sie innerhalb festgelegter Grenzen für die Aufgabenstellung geeignet ist und dadurch zum richtigen Ergebnis führt. Die Validierung einer Analysenmethode ist somit eine essentielle Grundlage der Qualitätssicherung und für die Einführung in die Routineanalytik unerlässlich [99–101,111].

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze ermittelt sowie die Kenngrößen Selektivität, Spezifität, Präzision, Linearität, Wiederfindungsrate und Richtigkeit, wie in den Kapiteln 4.4.2 bis 4.4.7 beschrieben, bestimmt. Hierfür wurden insgesamt vier Analysenreihen zu je sechs Wiederholungen durchgeführt. In der Analyse 1 wurde ein PCT-Mischstandard, der mit analytähnlichen Verbindungen versetzt war, auf die Methodenspezifität untersucht. Um den Praxisbezug zu gewährleisten, wurden artifizielle Umweltproben hergestellt, die mit dem in Kapitel 4.1.3 hergestellten PCT-Mischstandard dotiert wurden. Hierfür wurden Holzkohle (Brandprobe, Analyse 2) und Boden (Bodenprobe, Analyse 3) extrahiert sowie Speiseöl (Fettprobe Analyse 4) unbehandelt eingesetzt, um drei Umweltmatrices zu simulieren.

5.3.1 Charakterisierung der hergestellten artifiziellen Proben

5.3.1.1 Brandprobe (Analyse 2)

Es wurde Buchenholzkohle zerkleinert, gemahlen, extrahiert und anschließend mit dem PCT-Mischstandard dotiert, um eine Brandrestprobe zu simulieren. Die Matrix hatte eine gelbliche Färbung und roch charakteristisch nach Verbrennungsrückständen. Wie in Kapitel 3.2.2 beschrieben, kann davon ausgegangen werden, dass PCT bei Verbrennungsprozessen entstehen. Daher deckt diese Matrix einen wichtigen Aspekt in der Methodenvvalidierung ab. In Abbildung 34 ist das Chromatogramm der Screening-Analyse der Brandprobe dargestellt.

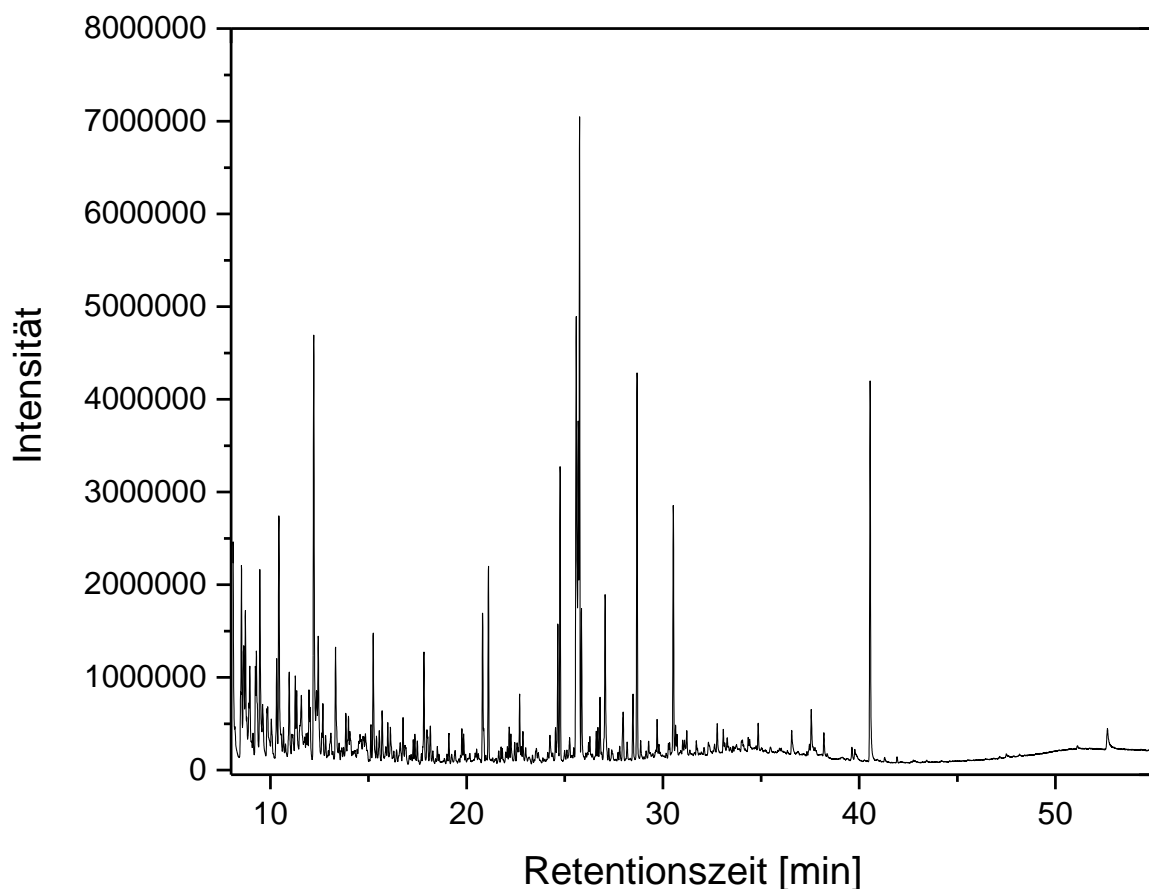


Abbildung 34: Gaschromatogramm der Brandprobe

Die Auswertung des Screenings erfolgte durch Vergleich der Massenspektren mit denen in der Spektrenbibliothek NIST 14, wobei nur Peaks berücksichtigt wurden, die eine Übereinstimmung größer als 80% aufwiesen. Es zeigte sich, dass die Matrix aus höheren Alkanen (C_{11} bis C_{27}), Alkenen (C_{11} bis C_{19}), Cycloalkanen und -alkenen und Alkoholen bestand. Des Weiteren befanden sich substituierten Benzol-, Phenol- und PAK-Derivate in der Matrix.

5 Ergebnisse und Diskussion

In Abbildung 35 sind das säulenchromatographische Clean-Up und die Florisil-Säule der Brandprobe abgebildet (vgl. Abbildung 11). Gelbliche Bestandteile der Matrix wurden vom Aluminiumoxid, das zur Abtrennung unpolarer Verbindungen diente [3,127], am Anfang der Säule zurückgehalten. In der zweiten Säule war der saure Bereich dunkel verfärbt, was auf Oxidationsprozesse in der Matrix schließen lässt. Nach der zweiten Säule war der Extrakt klar. Die dritte Säule diente zur Abtrennung von u.a. Kondensationsprodukten der Matrix aus der zweiten Säule [3,127], sodass ein gereinigter Extrakt auf die Florisil-Säule gegeben werden konnte.

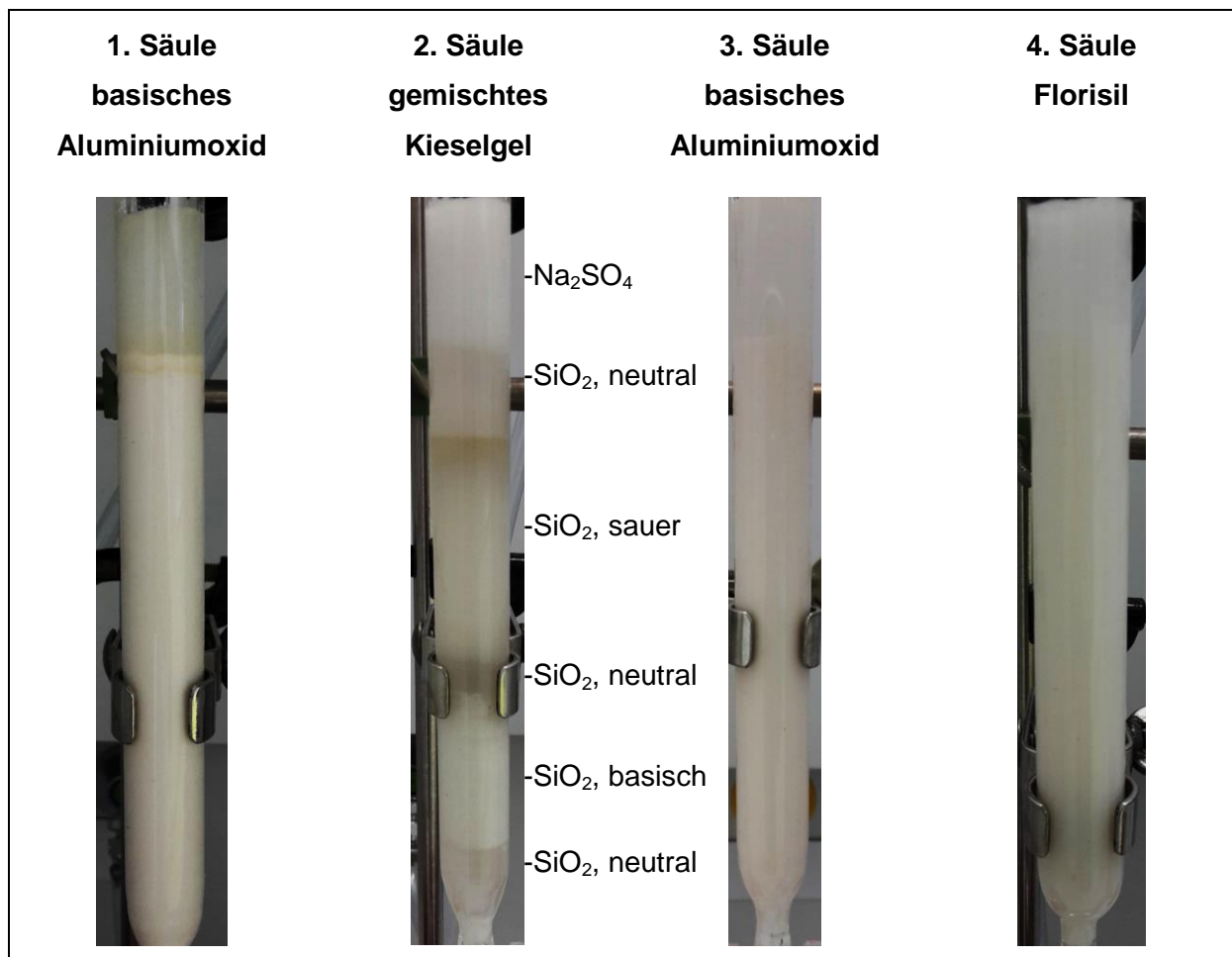


Abbildung 35: Säulenchromatographische Clean-Up und Florisil-Säule der Brandprobe (Analyse 2)

5.3.1.2 Bodenprobe (Analyse 3)

Für die Herstellung einer artifiziellen Bodenprobe wurde lehmiger Sandboden luftgetrocknet, gemahlen, extrahiert und anschließend mit dem PCT-Mischstandard dotiert. Der Extrakt hatte eine dunkelgelbe bis orangene Farbe und war durch Ausfall von Feststoffen getrübt. Durch ihre früheren Einsatzgebiete sind Sekundärquellen wie Abfalldeponien oder Bauschutt entstanden, wodurch PCT in die Umwelt respektive Böden emittiert werden können. Daher wurde Boden als Probenmatrix gewählt. Zudem ähnelt Boden Sediment, was ebenfalls eine potentiell kontaminierte Umweltmatrix ist. In der Abbildung 36 ist das Gaschromatogramm der Screening-Analyse der Bodenprobe gezeigt.

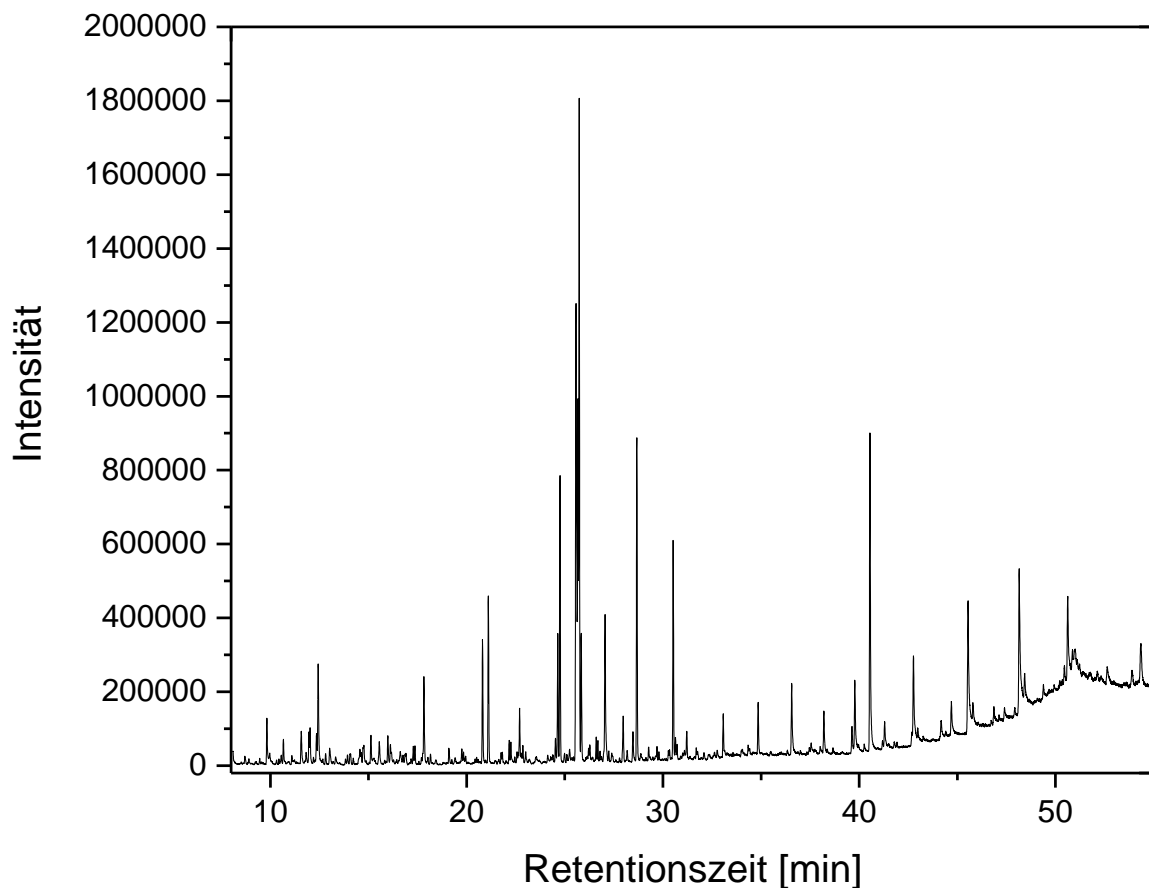


Abbildung 36: Gaschromatogramm der Bodenprobe

Das Screening wurde ebenfalls durch Vergleich der Massenspektren mit denen in der Spektrenbibliothek NIST 14 ausgewertet. Auch hier galt, dass nur Massenspektren berücksichtigt wurden, die eine Übereinstimmung größer als 80% aufwiesen. Die Matrix wies halogenierte und alkylierte Benzole, Phenole, höhere Alkane (C_{11} bis C_{20}), Alkene (C_{11} - C_{14}) und substituierte Naphthaline auf.

5 Ergebnisse und Diskussion

Das säulenchromatographische Clean-Up und die Florisil-Säule der Bodenprobe sind in der Abbildung 37 dargestellt. Die stark orangene Färbung der Matrix war gut in der ersten Säule zu erkennen. Neben dem verfärbten Natriumsulfat, wies das Aluminiumoxid am Anfang eine etwa 1 cm breite dunkle Verfärbung auf. Der saure Bereich der zweiten Säule wies ebenfalls eine dunkle Färbung aufgrund von Oxidationsprozessen in der Matrix auf [3,127]. Nach der zweiten Säule war der Extrakt nahezu klar.

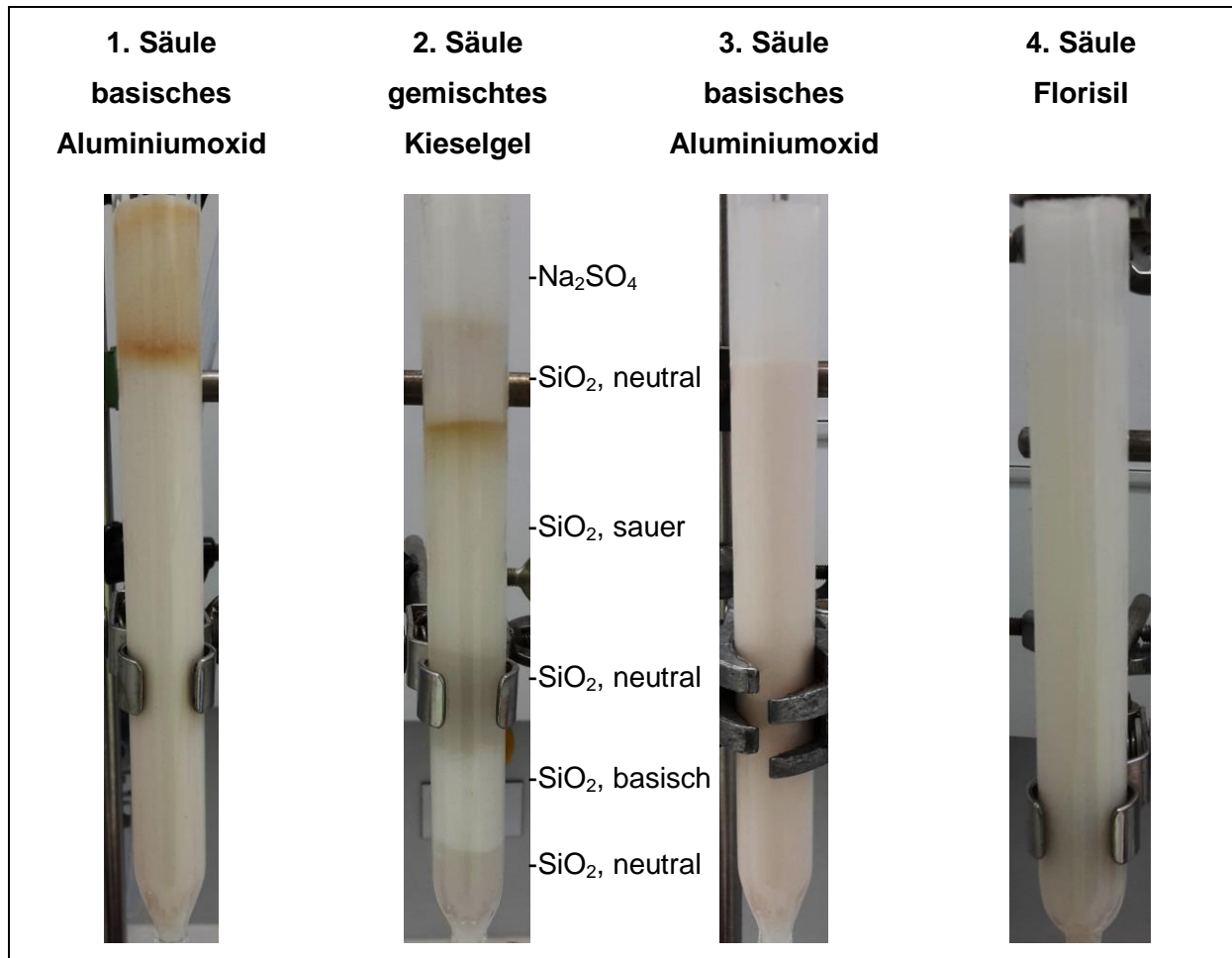


Abbildung 37: Säulenchromatographische Clean-Up und Florisil-Säule der Bodenprobe (Analyse 3)

5.3.1.3 Fettprobe (Analyse 4)

Stellvertretend für eine Fettprobe wurde Speiseöl direkt mit dem PCT-Mischstandard dotiert. PCT werden aufgrund ihrer Lipophilie und des hohen Bioakkumulationspotentials, wie ihre Stoffverwandten PCDD/F oder PCB auch, hauptsächlich im Fettgewebe von Mensch und Tier zu finden sein (Kapitel 3.3).

Die Abbildung 38 zeigt das säulenchromatographische Clean-Up und die Florisil-Säule der Fettprobe. Die erste basische Aluminiumoxid-Säule zeigte keinerlei Verfärbung durch die Matrix. Dagegen war bei der zweiten Säule an der Phasengrenze zwischen dem neutralen und sauren Kieselgel eine dunkelgelbe Färbung zu erkennen. Diese Beobachtung deutete auf Zersetzungsprozesse der in der Matrix befindlichen Bestandteile hin. Die dritte Säule wies wiederum keine Verfärbungen auf.

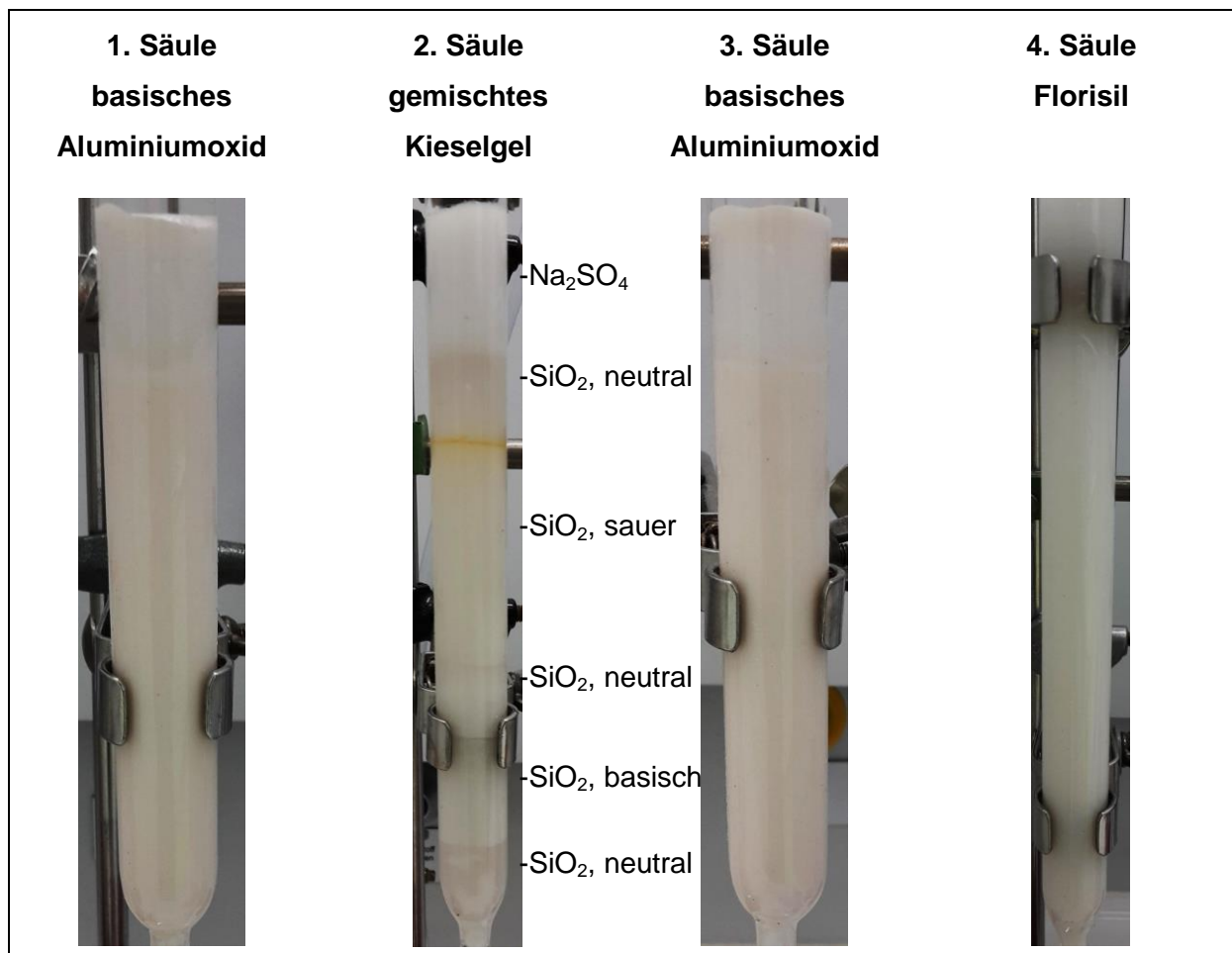


Abbildung 38: Säulenchromatographische Clean-Up und Florisil-Säule der Fettprobe (Analyse 4)

5.3.2 Linearität

Um quantitative Aussagen über die Analysen treffen zu können, sind richtige Kalibrierungen essentiell. Es wurden insgesamt vier Kalibrierreihen für die jeweiligen Fragestellungen erstellt, wobei für jedes PCT eine lineare Regression vorgenommen wurde. Folgende Verfahrenskennndaten wurden dabei bestimmt: Steigung b , Achsenabschnitt a , Verfahrensstandardabweichung s_{x0} , Verfahrensvariationskoeffizient V_{k0} , Korrelationskoeffizient r und Bestimmtheitsmaß r^2 . Um die Güte der Linearität zu überprüfen, wurde die Prüfgröße nach Mandel (PG_{Mandel}) berechnet [Gleichung (4), S. 43]. Außerdem wurde abgesichert, ob eine Varianzhomogenität zwischen dem kleinsten und größten Kalibrierwert vorlag, indem PG_{Varianz} nach Gleichung (9), S. 45 berechnet wurde. Um eventuell vorliegende Ausreißer zu erkennen, wurde zudem der F -Test durchgeführt [Gleichung (7), S. 44]. Zusätzlich wurde überprüft, ob sich die untere Arbeitsbereichsgrenze signifikant von null unterschied. Hierfür wurde der Prüfwert x_P nach Gleichung (10), S. 45 berechnet. Des Weiteren wurde die Prüfgröße nach David mittels Gleichung (23), S. 51 ermittelt, wodurch überprüft wurde, ob die Messwerte normalverteilt vorlagen. Die erhaltenen Verfahrenskennndaten und Prüfgrößen der Kalibrierung 1 bis 4 sind in Tabelle 58 bis Tabelle 65 zusammengefasst.

Tabelle 58: Verfahrenskennndaten der Kalibrierung 1

PCT	b [pg/ μ L]	a [pg/ μ L]	s _{x0} [pg/ μ L]	V _{k0} [%]	r	r ²
1	72,18	-316,22	0,61	3,95	0,982	0,965
2	47,53	-172,47	0,50	3,26	0,988	0,976
3	63,72	-161,28	0,62	3,97	0,982	0,965
4	71,10	-219,10	0,52	3,39	0,987	0,974
5	52,12	-195,08	0,63	4,09	0,981	0,962
6	63,65	-261,15	0,62	3,97	0,982	0,965
7	62,66	-345,14	0,54	3,49	0,986	0,972
8	34,95	-156,65	0,61	3,94	0,982	0,965
9	66,60	-213,40	0,61	3,92	0,983	0,965
10	36,54	-91,66	0,63	4,07	0,981	0,963
11	83,93	-284,87	0,53	3,39	0,987	0,974
12	170,99	-489,81	0,53	3,39	0,987	0,974
13	81,39	-178,81	0,54	3,47	0,986	0,973
14	89,21	-272,79	0,53	3,45	0,986	0,973
15	39,07	-109,33	0,61	3,96	0,982	0,965
16	81,39	-235,21	0,63	4,05	0,981	0,963
17	41,55	-158,85	0,52	3,33	0,987	0,975
18	85,56	-242,44	0,51	3,31	0,987	0,975
19	57,74	-277,06	0,67	4,35	0,979	0,958
20	58,94	-253,26	0,54	3,50	0,986	0,972
21/22	117,34	-415,06	0,61	3,93	0,983	0,965
23	67,77	-240,83	0,62	3,98	0,982	0,964
24	60,42	-71,38	0,62	3,99	0,982	0,964
25	63,76	-274,04	0,59	3,84	0,983	0,967
26	39,51	-208,89	0,62	4,02	0,982	0,964
27	30,58	-140,62	0,59	3,80	0,984	0,968
28	41,71	-191,29	0,63	4,05	0,981	0,963
29	13,61	-66,39	0,64	4,10	0,981	0,962

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 59: Prüfgrößen der Kalibrierung 1

PCT	PG_{Mandel}	PG_{Varianz}	PG_{F-Test}	X_P	PG_{David}
1	0,94	3,83	2,33	2,44	2,86
2	0,001	4,74	6,75	2,06	2,98
3	11,39	3,34	7,94	2,46	2,66
4	7,29	5,06	4,48	2,09	2,86
5	3,70	5,06	2,94	2,57	2,86
6	0,16	4,76	2,49	2,46	2,71
7	1,00	5,29	5,61	2,17	3,01
8	2,20	2,19	4,61	2,57	3,19
9	7,59	4,09	7,15	2,43	2,75
10	10,09	2,67	4,86	2,64	2,90
11	7,00	5,28	4,72	2,08	2,84
12	7,47	5,01	4,52	2,06	2,81
13	8,03	5,35	5,21	2,13	2,83
14	2,15	5,06	6,72	2,11	2,76
15	0,70	1,77	3,99	2,55	2,72
16	6,17	4,88	4,70	2,49	2,84
17	10,46	4,75	10,23	2,13	2,84
18	0,71	4,04	5,73	2,03	2,70
19	0,11	5,30	3,65	2,47	3,02
20	1,00	3,86	5,86	2,18	2,76
21/22	0,92	5,04	3,19	2,39	2,68
23	0,89	2,28	3,68	2,46	2,68
24	5,72	2,73	5,66	2,48	2,73
25	0,23	4,11	3,20	2,38	2,75
26	10,73	2,11	5,34	2,59	3,02
27	3,71	1,84	7,00	2,53	3,09
28	0,42	5,35	5,37	2,59	2,87
29	0,42	5,35	5,37	2,59	2,87

Tabelle 60: Verfahrenskennndaten Kalibrierung 2

PCT	b [pg/ μ L]	a [pg/ μ L]	s _{x0} [pg/ μ L]	V _{k0} [%]	r	r ²
1	0,19	-0,03	0,03	3,09	0,999	0,997
2	0,13	-0,02	0,04	3,83	0,998	0,996
3	0,25	-0,03	0,03	2,31	0,999	0,998
4	0,23	-0,03	0,02	1,89	0,999	0,999
5	0,15	-0,02	0,04	3,53	0,998	0,996
6	0,25	-0,03	0,04	3,60	0,998	0,996
7	0,22	-0,03	0,04	3,48	0,998	0,996
8	0,08	-0,01	0,04	4,01	0,998	0,995
9	0,17	-0,03	0,04	3,40	0,998	0,997
10	0,12	-0,01	0,04	3,74	0,998	0,996
11	0,24	-0,03	0,02	1,63	1,000	0,999
12	0,25	-0,02	0,02	1,89	0,999	0,999
13	0,26	-0,03	0,03	2,43	0,999	0,998
14	0,26	-0,03	0,02	1,86	0,999	0,999
15	0,11	-0,01	0,02	1,51	1,000	0,999
16	0,25	-0,03	0,02	2,02	0,999	0,999
17	0,10	-0,01	0,02	1,62	1,000	0,999
18	0,24	-0,02	0,01	1,15	1,000	1,000
19	0,21	-0,03	0,04	3,60	0,998	0,996
20	0,20	-0,01	0,04	3,73	0,998	0,996
21/22	0,49	-0,07	0,03	2,45	0,999	0,998
23	0,30	0,04	0,04	3,91	0,998	0,996
24	0,53	-0,06	0,02	1,72	1,000	0,999
25	0,23	-0,01	0,04	3,57	0,998	0,996
26	0,10	-0,01	0,04	3,83	0,998	0,996
27	0,07	-0,01	0,04	3,97	0,998	0,995
28	0,10	-0,01	0,03	2,34	0,999	0,998
29	0,02	0,00	0,04	3,50	0,998	0,996

Tabelle 61: Prüfgrößen Kalibrierung 2

PCT	PG_{Mandel}	PG_{Varianz}	PG_{F-Test}	x_P	PG_{David}
1	9,32	1,79	6,86	0,15	2,89
2	5,16	4,97	9,09	0,19	2,87
3	0,10	1,37	8,16	0,11	2,87
4	2,78	2,08	10,28	0,09	2,90
5	3,19	3,63	8,40	0,17	2,87
6	0,21	2,04	3,40	0,18	2,85
7	0,07	5,05	12,19	0,17	2,87
8	0,04	1,90	1,93	0,20	2,79
9	2,07	4,02	3,89	0,17	2,94
10	0,03	1,38	4,96	0,19	2,83
11	5,08	1,62	10,26	0,08	2,93
12	2,36	1,50	6,90	0,09	2,95
13	2,33	4,73	6,83	0,12	2,91
14	9,26	3,90	8,83	0,09	2,92
15	0,52	4,73	4,55	0,07	2,98
16	5,89	2,29	12,11	0,10	2,91
17	0,46	1,01	4,67	0,08	2,96
18	7,39	1,06	5,56	0,06	2,96
19	0,83	3,84	3,26	0,18	2,88
20	1,34	1,77	5,60	0,18	2,97
21/22	1,12	5,27	5,08	0,12	2,88
23	8,94	1,67	2,43	0,19	2,97
24	6,22	1,70	9,96	0,08	2,93
25	0,03	5,43	2,23	0,18	2,87
26	0,10	2,50	10,33	0,19	2,82
27	0,79	4,93	7,42	0,20	2,80
28	0,19	3,33	8,24	0,12	2,89
29	8,90	3,88	3,96	0,17	2,93

Tabelle 62: Verfahrenskennndaten der Kalibrierung 3

PCT	b [pg/ μ L]	a [pg/ μ L]	s _{x0} [pg/ μ L]	V _{k0} [%]	r	r ²
1	0,20	-0,04	0,03	3,15	0,999	0,997
2	0,13	-0,03	0,04	3,79	0,998	0,996
3	0,25	-0,04	0,03	2,68	0,999	0,998
4	0,24	-0,04	0,04	3,75	0,998	0,996
5	0,14	-0,03	0,04	3,71	0,998	0,996
6	0,26	-0,03	0,03	2,43	0,999	0,998
7	0,21	-0,03	0,04	3,56	0,998	0,996
8	0,08	-0,01	0,04	3,83	0,998	0,996
9	0,14	-0,02	0,02	1,89	0,999	0,999
10	0,14	-0,02	0,04	4,00	0,998	0,995
11	0,24	-0,04	0,04	4,04	0,998	0,995
12	0,25	-0,03	0,02	1,60	1,000	0,999
13	0,29	-0,04	0,04	3,99	0,998	0,995
14	0,26	-0,04	0,04	3,48	0,998	0,996
15	0,12	-0,02	0,04	3,78	0,998	0,996
16	0,25	-0,04	0,04	3,58	0,998	0,996
17	0,11	-0,01	0,04	3,79	0,998	0,996
18	0,26	-0,02	0,04	3,71	0,998	0,996
19	0,22	-0,04	0,04	3,74	0,998	0,996
20	0,23	-0,02	0,04	3,92	0,998	0,996
21/22	0,48	-0,07	0,04	3,92	0,998	0,996
23	0,26	0,08	0,04	3,88	0,998	0,996
24	0,25	-0,03	0,03	3,14	0,999	0,997
25	0,23	-0,01	0,03	2,83	0,999	0,998
26	0,10	-0,01	0,04	3,29	0,998	0,997
27	0,07	-0,01	0,04	3,83	0,998	0,996
28	0,10	-0,01	0,03	2,68	0,999	0,998
29	0,02	0,00	0,04	3,99	0,998	0,995

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 63: Prüfgrößen der Kalibrierung 3

PCT	PG_{Mandel}	PG_{Varianz}	PG_{F-Test}	X_P	PG_{David}
1	10,93	2,50	12,17	0,16	2,91
2	5,60	5,30	8,59	0,19	2,87
3	0,03	4,71	4,61	0,13	2,84
4	2,65	4,50	8,39	0,19	2,85
5	7,75	4,82	11,66	0,18	2,92
6	0,97	4,87	4,88	0,08	2,91
7	0,40	4,60	1,64	0,18	2,88
8	0,32	2,27	3,76	0,19	2,83
9	1,64	3,50	4,47	0,09	2,91
10	0,13	4,51	2,52	0,20	2,82
11	5,76	5,35	7,32	0,20	2,85
12	1,37	4,61	5,69	0,08	2,90
13	11,30	4,74	4,22	0,20	2,88
14	11,52	4,96	5,88	0,17	2,92
15	0,88	5,29	3,88	0,19	2,85
16	6,70	4,12	9,25	0,18	2,89
17	6,87	1,70	7,74	0,19	2,85
18	0,28	4,35	2,79	0,18	2,91
19	1,69	3,08	5,84	0,18	2,87
20	0,00	1,33	4,27	0,19	2,90
21/22	11,98	2,35	3,77	0,19	2,98
23	2,65	3,80	4,91	0,19	3,02
24	10,68	5,32	3,23	0,16	2,92
25	0,48	2,02	4,95	0,14	2,98
26	3,15	1,33	2,30	0,16	2,95
27	1,54	5,23	10,29	0,19	2,88
28	0,94	4,72	9,84	0,13	2,89
29	0,55	2,34	3,91	0,20	2,95

Tabelle 64: Verfahrenskennndaten der Kalibrierung 4

PCT	b [pg/ μ L]	a [pg/ μ L]	s _{x0} [pg/ μ L]	V _{k0} [%]	r	r ²
A	0,60	-0,05	0,03	2,97	0,999	0,997
B	0,03	0,01	0,03	3,03	0,999	0,997
C	0,37	-0,03	0,03	2,40	0,999	0,998
D	0,26	-0,02	0,02	2,27	0,999	0,998
E	0,29	-0,01	0,03	2,79	0,999	0,998
1	0,16	-0,04	0,04	4,04	0,998	0,995
2	0,14	-0,02	0,03	2,86	0,999	0,998
3	0,26	-0,04	0,04	3,63	0,998	0,996
4	0,27	-0,05	0,03	2,58	0,999	0,998
5	0,15	-0,03	0,04	3,95	0,998	0,995
6	0,31	-0,03	0,04	3,65	0,998	0,996
7	0,26	-0,02	0,04	3,96	0,998	0,995
8	0,12	-0,03	0,04	3,94	0,998	0,995
9	0,16	-0,04	0,04	3,84	0,998	0,996
10	0,18	-0,03	0,04	3,47	0,998	0,996
11	0,27	-0,06	0,04	3,95	0,998	0,995
12	0,28	-0,05	0,04	3,67	0,998	0,996
13	0,32	-0,04	0,03	2,68	0,999	0,998
14	0,29	-0,04	0,04	3,26	0,998	0,997
15	0,14	-0,03	0,04	3,92	0,998	0,996
16	0,27	-0,05	0,04	3,45	0,998	0,997
17	0,12	-0,01	0,04	3,35	0,998	0,997
18	0,28	-0,03	0,03	2,29	0,999	0,998
19	0,25	-0,03	0,04	3,87	0,998	0,996
20	0,24	-0,02	0,04	3,36	0,998	0,997
21/22	0,49	-0,01	0,03	3,07	0,999	0,997
23	0,29	0,03	0,04	4,03	0,998	0,995
24	0,60	-0,05	0,03	2,97	0,999	0,997
25	0,28	-0,02	0,03	2,44	0,999	0,998
26	0,13	-0,01	0,04	3,46	0,998	0,996
27	0,11	-0,02	0,04	3,26	0,998	0,997
28	0,12	-0,01	0,04	3,52	0,998	0,996
29	0,03	0,00	0,03	2,45	0,999	0,998

Tabelle 65: Prüfgrößen der Kalibrierung 4

PCT	PG_{Mandel}	PG_{Varianz}	PG_{F-Test}	X_P	PG_{David}
B	2,93	3,70	3,57	0,15	3,00
C	0,00	1,62	5,85	0,12	2,90
D	0,11	1,91	5,38	0,11	2,89
E	0,28	3,06	5,06	0,14	2,93
1	5,18	2,88	5,69	0,20	2,91
2	-6,96	1,66	5,71	0,14	2,92
3	4,94	1,28	11,20	0,18	2,85
4	3,18	1,22	9,88	0,13	2,89
5	6,31	5,00	5,69	0,20	2,89
6	5,21	1,22	6,80	0,18	2,91
7	2,12	2,70	4,71	0,20	2,85
8	0,06	1,04	4,05	0,20	2,78
9	7,60	3,97	12,21	0,19	2,88
10	0,00	1,16	1,94	0,17	2,94
11	5,41	4,85	10,84	0,20	2,86
12	1,40	3,49	5,17	0,18	2,89
13	3,26	2,32	9,57	0,13	2,92
14	8,80	1,13	3,99	0,16	2,90
15	2,01	4,13	7,71	0,19	2,89
16	4,16	2,36	9,04	0,17	2,89
17	8,68	1,61	12,04	0,17	2,94
18	3,41	3,11	2,23	0,11	2,95
19	1,36	1,05	5,08	0,19	3,01
20	8,87	1,38	3,49	0,17	2,94
21/22	1,23	1,75	3,76	0,15	2,93
23	11,51	3,12	11,50	0,20	3,00
24/A	-6,96	2,36	9,70	0,15	2,91
25	10,77	1,91	3,40	0,12	2,94
26	2,41	1,78	6,49	0,17	2,85
27	0,67	3,51	3,04	0,16	2,84
28	4,50	2,71	6,49	0,17	2,95
29	0,01	1,09	6,69	0,12	3,00

5 Ergebnisse und Diskussion

Die ermittelten Verfahrensvariationskoeffizienten der Kalibrierung 1 lagen in einem Bereich von 3,26% (PCT 2) bis 4,35% (PCT 19), im Mittel bei 3,78%. Für die Kalibrierung 2 ergaben sich Werte von 1,15% (PCT 18) bis 4,01% (PCT 8), wobei der Mittelwert 2,84% betrug. Die Kalibrierung 3 wies Verfahrensvariationskoeffizienten von 1,60% (PCT 12) bis 4,04% (PCT 11), wobei sich ein Mittelwert von 3,43% ergab. Die Verfahrensvariationskoeffizienten der Kalibrierung 4 variierten in einem Bereich von 2,29% (PCT 18) bis 4,04% (PCT 1) mit einem Mittelwert von 3,29%. Das allgemeine Akzeptanzkriterium für V_{k0} liegt bei $< 3,33\%$ [99,113]. Somit lagen alle berechneten Verfahrensvariationskoeffizienten in einem akzeptablen Bereich. Die ermittelten Prüfgrößen nach Mandel waren alle kleiner als der in der F -Tabelle gelistete Wert (Anhang, Tabelle A 1) von 12,25 ($P = 99\%$, $f_1 = 1$, $f_2 = n-3$, mit $n = 10$), somit würde eine quadratische Funktion zu keiner signifikant besseren Anpassung der Kalibrierung führen. Die berechneten Prüfgrößen zur Varianzhomogenität waren ebenfalls alle kleiner als der Wert in der F -Tabelle von 5,35 ($P = 99\%$, $f_1 = n-1$, mit $n = 10$). Damit herrschte kein signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen. Die Auswertung des F -Testes ergab, dass alle Werte kleiner 12,25 ($P = 99\%$, $f_1 = 1$, $f_2 = n-3$, mit $n = 10$) waren. Somit lag mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% kein Ausreißer vor. Dies bedeutet, dass die Verwendung der linearen Regressionen, trotz eines durchschnittlichen Korrelationskoeffizienten von 0,984 bei Kalibrierung 1, zulässig war. Da für alle PCT der berechnete $x_P < 11 \text{ pg}/\mu\text{L}$ (Kalibrierung 1) bzw. $x_P < 0,2 \text{ pg}/\mu\text{L}$ (Kalibrierung 2-4) war, war der untere Arbeitsbereich aller Kalibrierreihen gültig. Die Prüfgrößen nach David befanden sich innerhalb der Grenzwerte für eine Wahrscheinlichkeit von $P = 99\%$ ($2,51 < PG_{\text{David}} < 4,24$; Tabelle 28, Kapitel 4.4.5), somit waren die Messwerte normalverteilt. Die Auswertung zeigt, dass alle vier Kalibrierreihen die Linearitätskriterien erfüllten und für die Analysen verwendet werden konnten.

5.3.3 Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen

Durch das Aufstellen von Kalibriergeraden in einem Konzentrationsbereich von 11 bis 20 pg/ μ L (Kalibrierung 1, Kapitel 5.3.2) wurden die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen jedes einzelnen PCT bestimmt. Die Kalibrierreihen erfüllten dabei die in der DIN 32645 geforderten mathematischen Voraussetzungen (Normalverteilung, Varianzhomogenität und Linearität). In der Tabelle 66 sind die nach den Gleichungen (15), (17) und (20) (mit $k = 3$) berechneten Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der 29 PCT-Kongenere aufgelistet.

Tabelle 66: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze der 29 PCT-Referenzsubstanzen

PCT	NG [pg/ μ L]	EG [pg/ μ L]	BG [pg/ μ L]	PCT	NG [pg/ μ L]	EG [pg/ μ L]	BG [pg/ μ L]
1	2,27	4,54	6,19	15	2,29	4,58	6,22
2	1,88	3,76	5,35	16	2,33	4,67	6,32
3	2,28	4,56	6,21	17	1,88	3,77	5,36
4	1,94	3,88	5,48	18	1,92	3,83	5,43
5	2,36	4,72	6,37	19	2,27	4,53	6,18
6	2,28	4,56	6,21	20	2,02	4,04	5,66
7	2,02	4,04	5,66	21/22	2,25	4,51	6,15
8	2,24	4,48	6,12	23	2,31	4,62	6,26
9	2,24	4,47	6,12	24	2,28	4,56	6,21
10	2,34	4,69	6,34	25	2,22	4,44	6,08
11	1,95	3,91	5,51	26	2,36	4,71	6,36
12	1,96	3,92	5,53	27	2,19	4,39	6,02
13	2,01	4,03	5,64	28	2,32	4,64	6,29
14	2,00	4,01	5,62	29	2,46	4,93	6,57

Es wurden gerundet 2 pg/ μ L als Nachweisgrenze, 4 pg/ μ L als Erfassungsgrenze und 6 pg/ μ L als Bestimmungsgrenze für die PCT-Kongenere im reinen Lösungsmittel mittels der optimierten GC/MS-Methode (Tabelle 56, Kapitel 5.2) ermittelt. Somit wurde das Kriterium, das der Quotient aus höchstem Kalibrierwert und ermittelter Nachweisgrenze kleiner gleich 10 sein muss, erfüllt.

5 Ergebnisse und Diskussion

Zur graphischen Überprüfung der Bestimmungsgrenze wurde eine Messung mit einem 6 pg/ μ L je Kongener PCT-Mischstandard durchgeführt. Das erhaltene Gaschromatogramm ist in der Abbildung 39 zu sehen. Es ist zu erkennen, dass die Signale eindeutig quantifizierbar sind.

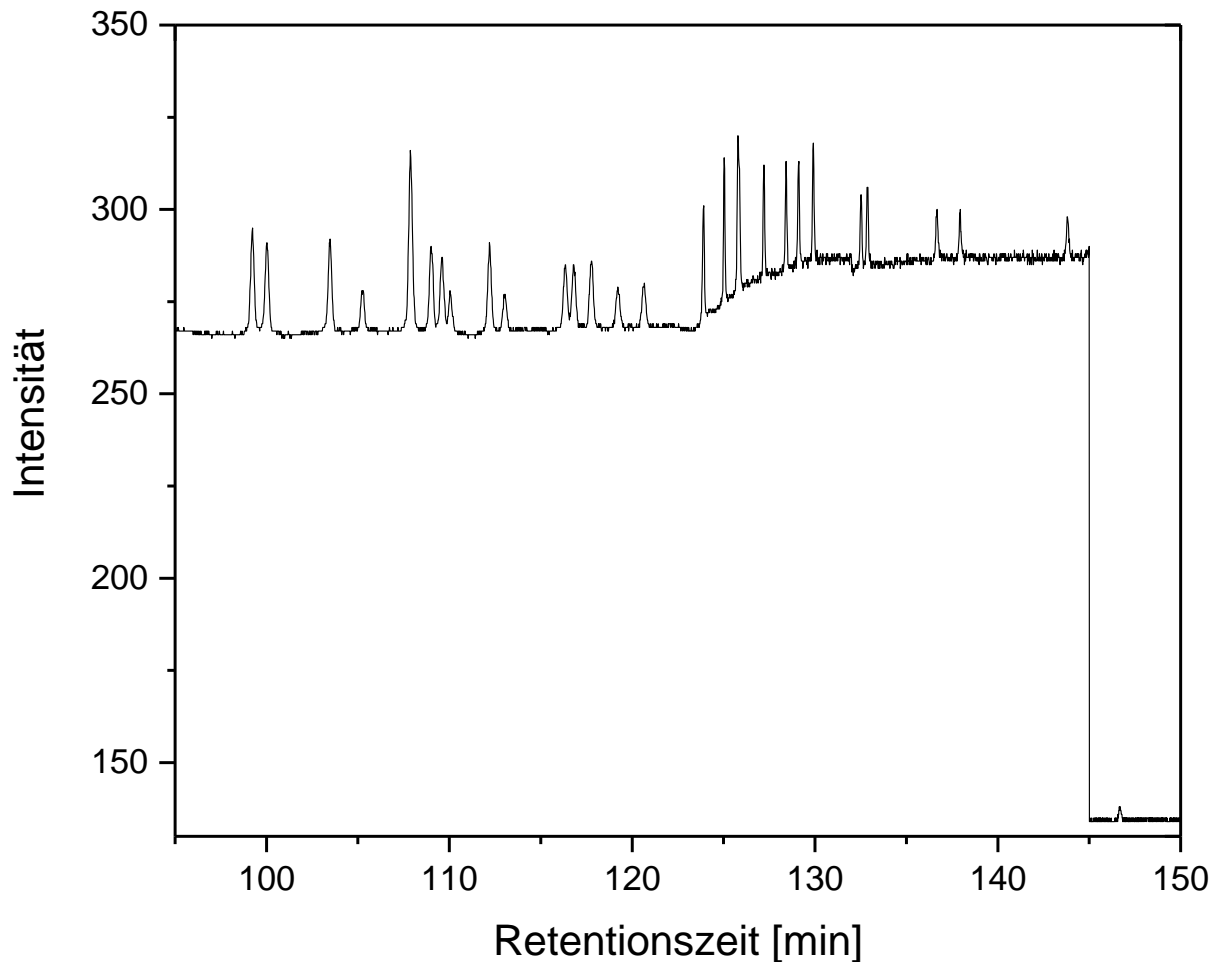


Abbildung 39: Gaschromatogramm eines 6 pg/ μ L je Kongener PCT-Mischstandards

In einer vorangegangenen Arbeit wurde exemplarisch eine Brandprobe analysiert, wobei eine Gesamtkonzentration von 17 μ g/kg für PCT 5 und 8 sowie 3,3''-Dichloro-*p*-terphenyl ermittelt wurde [5]. Bei einer Probeneinwaage von 10 g und der Annahme, dass alle drei Kongenere im gleichen Verhältnis vorkommen würden, würde das für die hier vorgestellte Methode, bei der die Probe am Ende auf 1 mL Extrakt eingeeengt wird, einem Injektionsvolumen von ca. 57 pg/ μ L pro Einzelsubstanz (170 pg/ μ L für alle drei PCT) entsprechen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die in Realproben erwarteten Konzentrationsbereiche mit dieser Methode abgedeckt werden können.

5.3.4 Selektivität und Spezifität

Durch Optimierung der gaschromatographischen und massenspektrometrischen Bedingungen konnte eine selektive Methode entwickelt werden, die 27 der 29 interessierenden coplanaren PCT ohne gegenseitige Störung detektiert. PCT 21 und 22 konnten trotz langsamer Aufheizrate des Ofens und längerer GC-Säule nicht getrennt werden und werden daher als Summe behandelt (Kapitel 5.2).

Da davon ausgegangen werden kann, dass PCT in Umweltproben neben PCDD/F und PCB auftreten, wurde die Spezifität der Methode anhand dieser Verbindungen sowie PAK und nicht coplanaren PCT überprüft. Hierfür wurden zunächst exemplarisch Vertreter der einzelnen Substanzklassen ausgesucht, mittels der GC/MS-Methode (Tabelle 56, Kapitel 5.2) im SCAN-Modus gemessen und die Retentionszeiten sowie Molekülionen $[M]^+$ bestimmt. Im Anschluss daran wurde überprüft, ob die Verbindungen im SIM-Modus detektiert werden. Eine Übersicht darüber gibt die Tabelle 67.

Tabelle 67: Übersicht der Retentionszeiten (RT) der analytähnlichen Verbindungen

(✓: Signal, ✗: kein Signal)

nicht coplanare-PCT	$[M]^+$ [m/z]	RT [min]	SIM
PCT A (3,5,2',3'',5''-Pentachlor-p-terphenyl)	401,90	117,14	✓
PCT B (2,3,5,2'',3'',5''-Hexachlor-p-terphenyl)	435,90	126,75	✗
PCT C (2,5,2'',5''-Tetrachlor-m-terphenyl)	367,95	80,73	✓
PCT D (2,3,5,2'',3'',5''-Hexachlor-m-terphenyl)	435,90	123,87	✓
PCT E (3,5,3'',5''-Tetrachlor-o-terphenyl)	367,95	55,23	✓
PCB			
PCB 28 (2,4,4'-Trichlorbiphenyl)	255,95	17,21	✗
PCB 52 (2,2',5,5'-Tetrachlorbiphenyl)	291,90	19,56	✗
PCB 101 (2,2',4,5,5'-Pentachlorbiphenyl)	225,85	27,97	✗
PCB 138 (2,2',3,4,4',5-Hexachlorbiphenyl)	259,85	40,00	✓
PCB 153 (2,2',4,4',5,5'-Hexachlorbiphenyl)	259,80	44,69	✓
PCB 180 (2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorbiphenyl)	393,80	58,21	✓
PCDD			
1,2,3,4-TCDD (1,2,3,4-Tetrachlordibenzodioxin)	321,85	43,89	✗
OCDD (Octachlordibenzodioxin)	495,70	124,93	✓

Fortsetzung S. 106

Fortsetzung der Tabelle 67

PAK	[M] ⁺ [m/z]	RT [min]	SIM
Naphthalin	-	< 8*	×
Acenaphthylen	152,05	9,36	×
Acenaphthen	153,05	9,71	×
Fluoren	166,05	10,93	×
Phenanthren	178,05	14,89	×
Anthracen	178,05	15,15	×
Fluoranthren	202,05	25,22	×
Pyren	202,05	28,04	×
Benzo[a]anthracen	228,10	52,02	×
Chrysen	228,10	52,95	×
Benzo[b]fluoranthren	252,10	82,80	×
Benzo[k]fluoranthren	252,10	83,59	×
Benzo[a]pyren	252,10	91,91	×
Dibenzo[a,h]anthracen	276,10	124,70	×
Indeno[1,2,3-cd]pyren	278,10	125,47	×
Benzo[ghi]perylene	276,10	127,31	×

*eluiert während des Lösungsmittelvorlaufs

Danach wurde ein 500 pg/μL-PCT-Mischstandard mit den in der Tabelle 67 aufgelisteten analytähnlichen Verbindungen hergestellt und mittels der GC/MS-Methode im SIM-Modus gemessen (Tabelle 56, Kapitel 5.2). Das erhaltene Gaschromatogramm ist in der Abbildung 40 dargestellt.

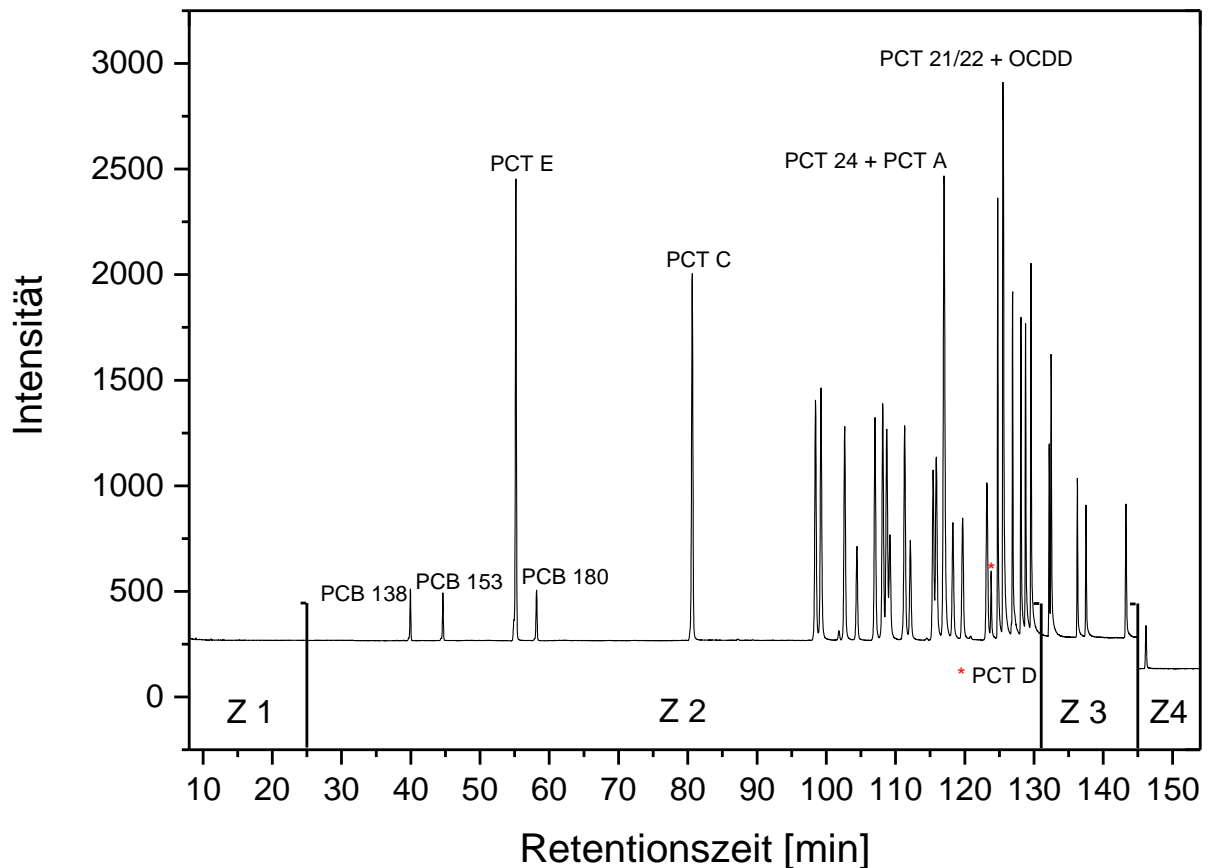


Abbildung 40: Gaschromatogramm des 500 pg/μL PCT-Mischstandards versetzt mit den analytähnlichen Verbindungen gemessen im SIM-Modus (Z: Zeitfenster)

Aus der Tabelle 67 sowie aus dem Gaschromatogramm ist ersichtlich, dass ein Teil der PCB, alle PAK sowie das 1,2,3,4-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin aufgrund ihrer Massen im ersten und zweiten Zeitfenster der SIM-Methode nicht erfasst worden sind. Naphthalin, welches als das leichtflüchtigste PAK gilt, eluierte bereits im Lösemittelvorlauf, sodass es nicht vom Detektor registriert wurde. Das hexachlorierte PCT B, für das in der SCAN-Methode eine Retentionszeit von 126,75 min ermittelt wurde, eluierte innerhalb des eingestellten Zeitfensters der tetra- und pentachlorierten Terphenyle (Z2), weshalb es nicht von der SIM-Methode detektiert wurde. Dagegen wurde das ebenfalls hexachlorierte PCT D in diesem Zeitfenster mit einer geringen Intensität bei RT 123,87 min erfasst. Es zeigte aber einen basisliniengetrennten Peak zwischen PCT 1 und PCT 23. PCB 138, 153 und 180 sowie PCT C und E wiesen keine Überschneidungen mit den Retentionszeiten der relevanten 29 coplanaren PCT auf. Das Octachlordibenzodioxin zeigte nur eine geringe Intensität in der SIM-Methode, sodass es bei weiteren Analysen nicht signifikant stören sollte. Ausschließ-

5 Ergebnisse und Diskussion

lich PCT A zeigte eine Überlagerung mit PCT 24, welches jedoch durch seine nicht coplanare Konformation in der ersten Fraktion der Florisil-Säule abgetrennt wird. Um dies zu überprüfen wurde der Mischstandard, bestehend aus den 29 coplanaren PCT und den analytähnlichen Substanzen, sechsfach dem in Kapitel 4.3 vorgestellten PCT-Analysenverfahren unterzogen (Analyse 1), wobei sich jeweils 50 pg jedes PCT, PCB, PCDD und PAK im Analysengang befanden. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mittels der Kalibrierung 2 (Tabelle 60, Kapitel 5.3.2). Die erhaltenen Konzentrationen sind in der Tabelle A 5 im Anhang zu finden. Es wurden die Wiederfindungsraten für jedes einzelne PCT nach Gleichung (25), Kapitel 4.4.6 bestimmt, für die sechs Durchgänge gemittelt ($s = \pm 2\% - 6\%$) und graphisch in der Abbildung 41 zusammengefasst. Dabei entsprachen 50 pg/ μ L einer Wiederfindung von 100%.

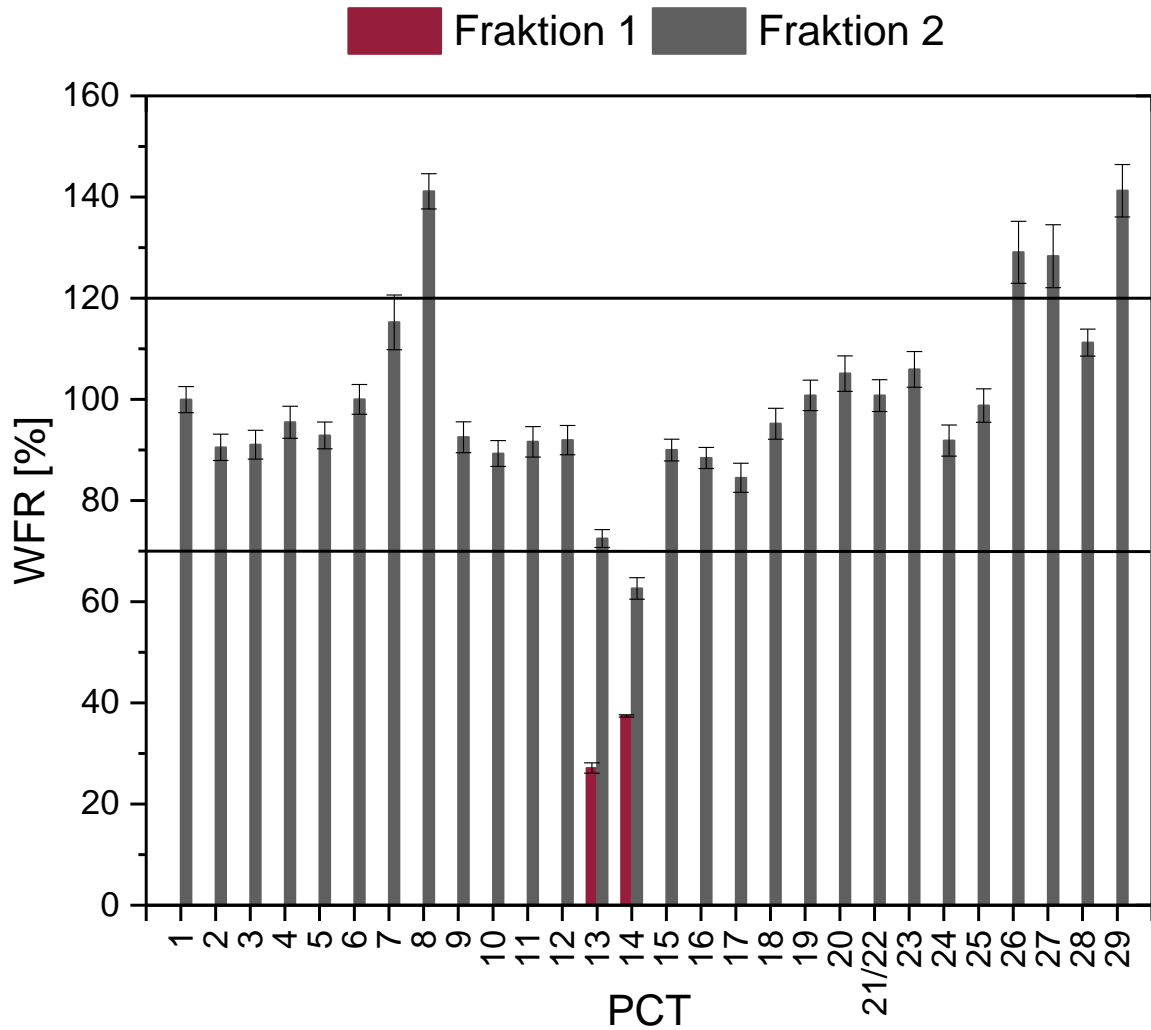


Abbildung 41: Wiederfindungsraten der Analyse 1

Es gab Durchbrüche von 27% PCT 13 und 37% PCT 14 in die erste Fraktion. In der zweiten Fraktion betrugen die Wiederfindungsraten von PCT 13 72% und PCT 14 63%. Alle anderen coplanaren PCT eluierten, wie erwartet, mit sehr guten Wiederfindungen zwischen 84% (PCT 17) und 115% (PCT 7) in der zweiten Fraktion. Höhere Überbefunde wurden bei den hexachlorierten Kongeneren PCT 8 (141%), PCT 26 (129%) und PCT 27 (128%) sowie beim heptachlorierten PCT 29 (141%) gefunden. Allgemein ist ein ansteigender Trend der Wiederfindungsraten von den tetra- bis zu den heptachlorierten Terphenylen, sprich von PCT 1 bis PCT 8 sowie von PCT 9 bis PCT 29, zu erkennen. Diese Befunde werden mit denen der anderen Analysen in Kapitel 5.5 ausführlich diskutiert. Zur Spezifität der Methode kann festgestellt werden, dass die hier untersuchten analytähnlichen Substanzen das säulenchromatographische sowie Detektionsverhalten der relevanten 29 PCT-Referenzsubstanzen kaum, d.h. nur in einem nachgewiesenen Fall, stören oder beeinflussen.

5.3.5 Wiederfindungsrate

Es wurden jeweils sechs Analysendurchgänge mit den drei artifiziell hergestellten Umweltproben durchgeführt. Für einen Analysendurchgang wurde jeweils 1 mL des Probenextraktes (Analyse 2, Brandprobe, entsprach 5 g Kohle; Analyse 3, Bodenprobe, entsprach 10 g Boden; Analyse 4, Fettprobe, entsprach 0,92 g Sonnenblumenöl) mit 100 µL des in Kapitel 4.1.3 hergestellten 500 pg/µL Mischstandards dotiert. Die Analysenergebnisse wurden mittels Kalibrierung 3 (Tabelle 62, Kapitel 5.3.2) ausgewertet und die Wiederfindungsraten bestimmt. Dabei entsprachen 50 pg/µL einer Wiederfindung von 100% bei 1 mL Analysenextrakt. In diesem Kapitel werden die erhaltenen Wiederfindungsraten lediglich besprochen, die Bewertung der Beobachtungen findet zusammenfassend für alle Analysen im Kapitel 5.5 statt.

In Abbildung 42 sind die gemittelten Wiederfindungsraten für jedes einzelne PCT der Brandprobe graphisch dargestellt. Die dazugehörigen ermittelten Konzentrationen sind der Tabelle A 6 im Anhang zu entnehmen.

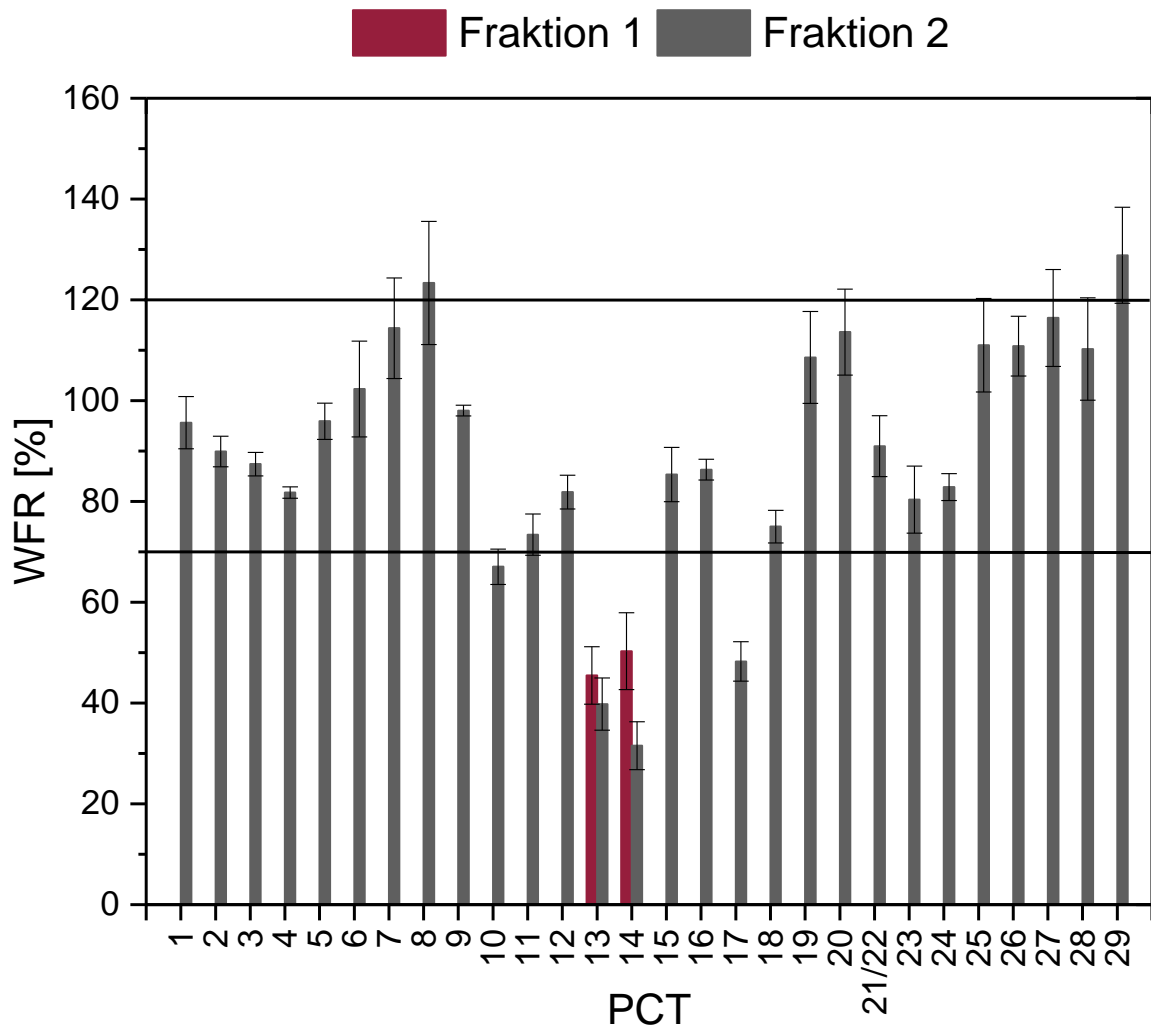


Abbildung 42: Wiederfindungsraten der Brandprobe (Analyse 2)

PCT 13 und PCT 14 wurden mit Wiederfindungsraten von 45% bzw. 50% in der ersten Fraktion und mit 40% bzw. 32% in der zweiten Fraktion der Florisil-Säule detektiert. Die anderen coplanaren PCT wurden ausschließlich in der zweiten Fraktion gefunden. Niedrigere Befunde wurden bei PCT 10 (67%) und PCT 17 (48%), und höhere Befunde bei PCT 8 (123%) und PCT 29 (129%) ermittelt. Vom tetra- bis heptachlorierten PCT-Kongener ist ein ansteigender Trend in den Wiederfindungsraten zu erkennen. Die Standardabweichungen der Wiederfindungsraten betrugen 1% bis 10% (Ø 5%).

Die gemittelten Wiederfindungsraten der Bodenprobe sind in der Abbildung 43 zu sehen. Die berechneten Konzentrationen sind in der Tabelle A 7 aufgelistet.

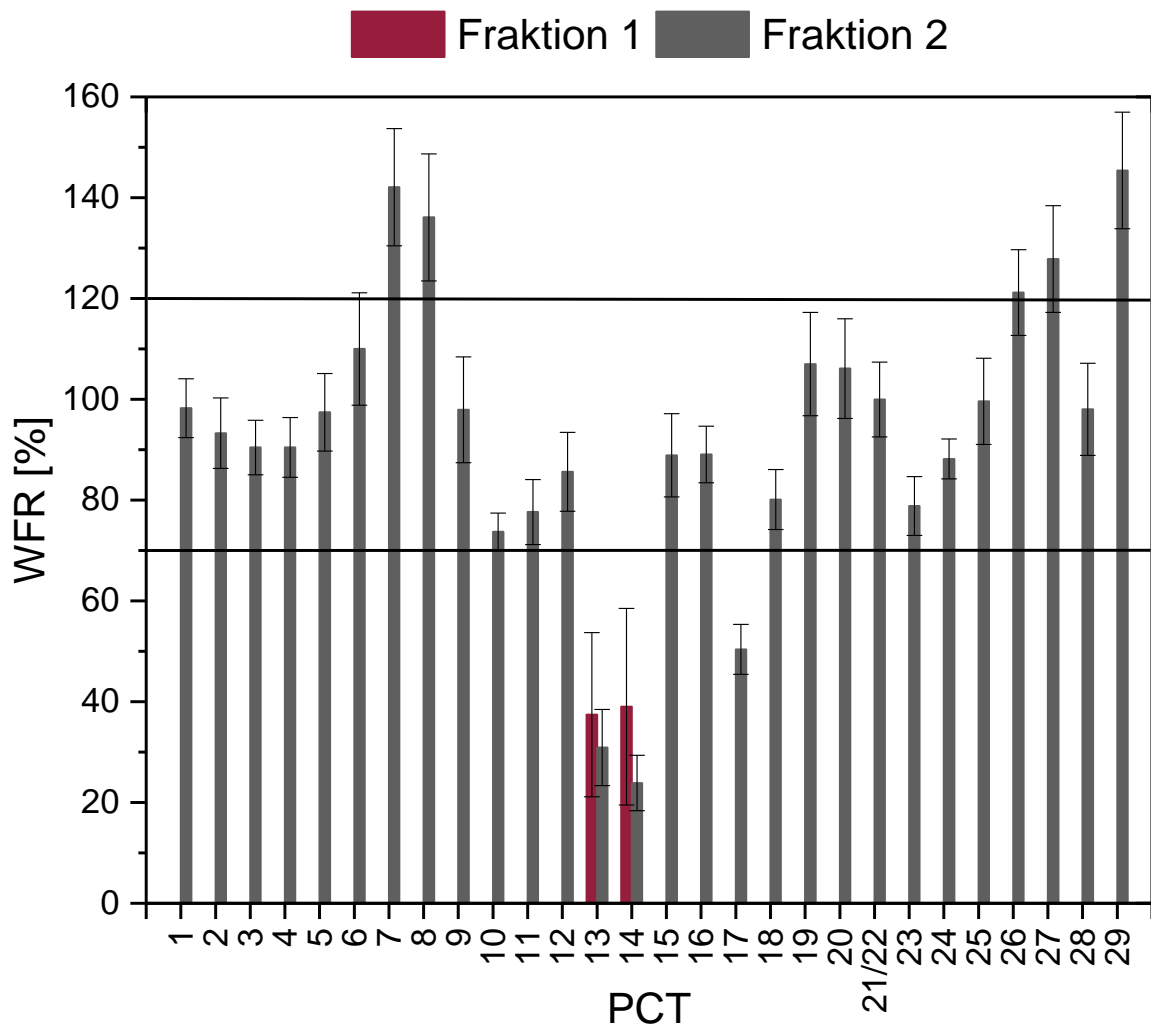


Abbildung 43: Wiederfindungsraten der Bodenprobe (Analyse 3)

Auch hier gab es einen Substanzdurchbruch der PCT-Kongenerne 13 und 14 in die erste Fraktion. Die Wiederfindungsraten lagen bei 37% und 39%; in der zweiten Fraktion lagen diese bei 31% bzw. 24% vor. Die restlichen PCT wurden nur in der zweiten Fraktion detektiert, wobei hier ebenfalls ein ansteigender Trend der Wiederfindungsraten mit zunehmenden Chlorierungsgrad der Terphenyle zu erkennen ist. Daher weisen PCT 7 (142%) und PCT 8 (136%) sowie PCT 27 (128%) und PCT 29 (145%) die höchsten Wiederfindungsraten auf. Den niedrigsten Befund zeigte PCT 17 (50%). Die anderen PCT lagen im Mittel bei einer Wiederfindung von 97%. Die Standardabweichungen betrugen 4% bis 13% ($\bar{\sigma}$ 8%).

In Abbildung 44 sind die gemittelten Wiederfindungsraten aus der Analyse der Fettprobe graphisch zusammengefasst. Die zugrundeliegenden berechneten Konzentrationen können der Tabelle A 8 im Anhang entnommen werden.

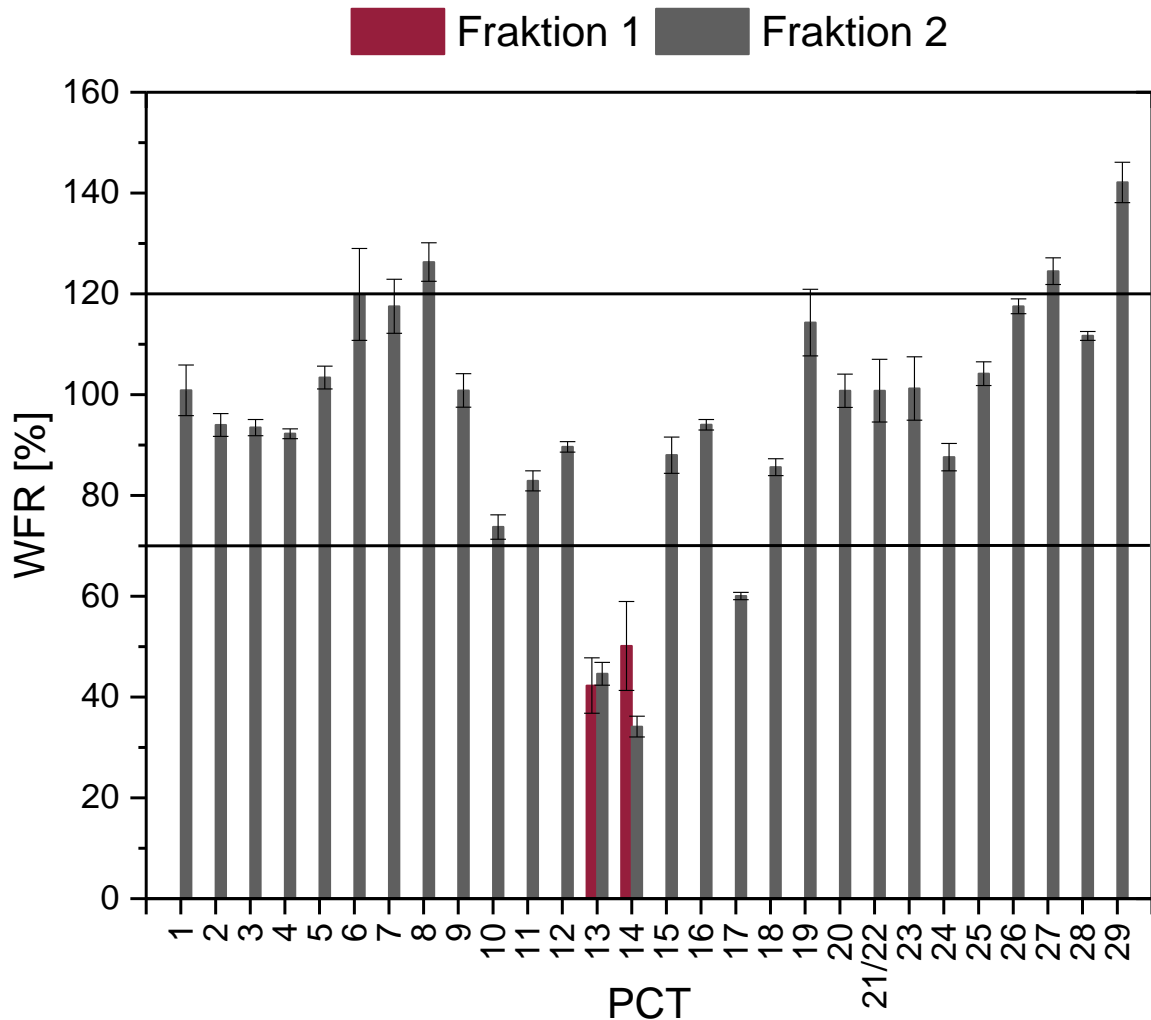


Abbildung 44: Wiederfindungsraten der Fettprobe (Analyse 4)

PCT 13 und PCT 14 wurden mit Wiederfindungsraten von 42% und 50% in der ersten Fraktion der Florisil-Säule gefunden. In der zweiten Fraktion betrugen diese 45% und 34%. Die Detektion der anderen PCT erfolgte ausschließlich in der zweiten Fraktion, wobei PCT 17 mit 60% die geringste Wiederfindung aufwies. Überbefunde wurden bei den hexachlorierten Terphenylen PCT 8 (126%) und PCT 27 (124%) sowie beim heptachlorierten Kongener PCT 29 (142%) ermittelt. Die restlichen PCT wiesen im Mittel eine Wiederfindung von 100% auf. Wie schon bei den vorher besprochenen Analysen, ist der ansteigende Trend der Wiederfindungsraten von PCT 1 bis PCT 8 sowie PCT 9 bis PCT 29 deutlich sichtbar. Die Standardabweichungen aller PCT befanden sich in einem Bereich von 1% bis 9% ($\bar{\sigma}$ 2%).

5.3.6 Präzision

5.3.6.1 Messpräzision

Die Messpräzision wurde für das in Tabelle 56 beschriebene GC/MS-System bestimmt, indem drei PCT-Mischstandardlösungen mit den Konzentrationen 10 pg/μL, 50 pg/μL und 100 pg/μL je Kongener (angesetzt aus dem in Kapitel 4.1.3 hergestellten 500 pg/μL Mischstandard), jeweils sechsfach in das GC/MS-System injiziert und der Variationskoeffizient für jedes PCT bestimmt wurde (ermittelte Peakflächen sind den Tabellen A 2 bis A 4 im Anhang zu entnehmen). Hierfür wurde zunächst überprüft, ob die Messwerte normalverteilt waren, wofür die Prüfgröße nach David berechnet wurde. Zudem wurde mittels der Prüfgröße nach Grubbs, die Messreihe auf Ausreißer überprüft. Die berechneten Prüfgrößen sind in der Tabelle 68 zusammengefasst. Alle berechneten PG_{David} -Werte befanden sich innerhalb der vorgegebenen Grenze von 2,15 und 3,16 ($P = 99\%$, Tabelle 28, Kapitel 4.4.5), somit lag eine Normalverteilung der Messwertereihen vor. Zudem wies keine der Messwertereihen Ausreißer auf, da alle ermittelten PG_{Grubbs} -Werte kleiner als 1,822 waren ($P = 95\%$, Tabelle 29, Kapitel 4.4.5).

Tabelle 68: PG_{David} und PG_{Grubbs} der Mehrfachmessungen

PCT	PG_{David} 10 pg/ μ L	PG_{David} 50 pg/ μ L	PG_{David} 100 pg/ μ L	PG_{Grubbs} 10 pg/ μ L	PG_{Grubbs} 50 pg/ μ L	PG_{Grubbs} 100 pg/ μ L
1	2,36	2,71	2,47	1,298	1,571	1,519
2	2,61	2,65	2,56	1,606	1,449	1,456
3	2,83	2,93	2,76	1,533	1,763	1,469
4	2,80	2,58	2,73	1,768	1,392	1,794
5	2,56	2,71	2,87	1,344	1,544	1,488
6	2,46	2,72	2,39	1,536	1,481	1,505
7	2,90	2,50	2,22	1,631	1,334	1,209
8	2,28	2,62	2,50	1,170	1,351	1,760
9	2,53	2,60	2,63	1,492	1,594	1,368
10	2,68	2,76	2,63	1,666	1,498	1,444
11	2,74	3,02	2,24	1,410	1,573	1,272
12	2,61	2,62	2,61	1,726	1,548	1,335
13	2,84	3,07	3,03	1,582	1,780	1,813
14	2,79	2,74	2,74	1,433	1,374	1,545
15	2,52	2,41	2,49	1,757	1,235	1,594
16	3,08	2,62	2,40	1,702	1,821	1,348
17	2,61	2,72	2,44	1,493	1,723	1,383
18	2,78	2,75	2,85	1,456	1,774	1,489
19	2,88	2,91	2,85	1,548	1,573	1,440
20	2,88	2,57	2,59	1,810	1,601	1,309
21/22	2,71	3,15	2,69	1,764	1,647	1,618
23	2,63	2,87	2,61	1,498	1,497	1,469
24	2,99	2,75	2,79	1,665	1,703	1,505
25	2,57	2,39	2,34	1,310	1,555	1,197
26	2,51	2,58	3,01	1,517	1,513	1,729
27	2,25	2,24	2,70	1,450	1,204	1,625
28	2,67	2,85	2,43	1,369	1,709	1,252
29	2,38	2,53	2,87	1,717	1,689	1,579

5 Ergebnisse und Diskussion

Die Variationskoeffizienten jedes einzelnen PCT, die mittels der in Kapitel 4.4.5 vorgestellten Gleichung (22) berechnet worden sind, sind für die jeweilige Konzentration in der Abbildung 45 dargestellt.

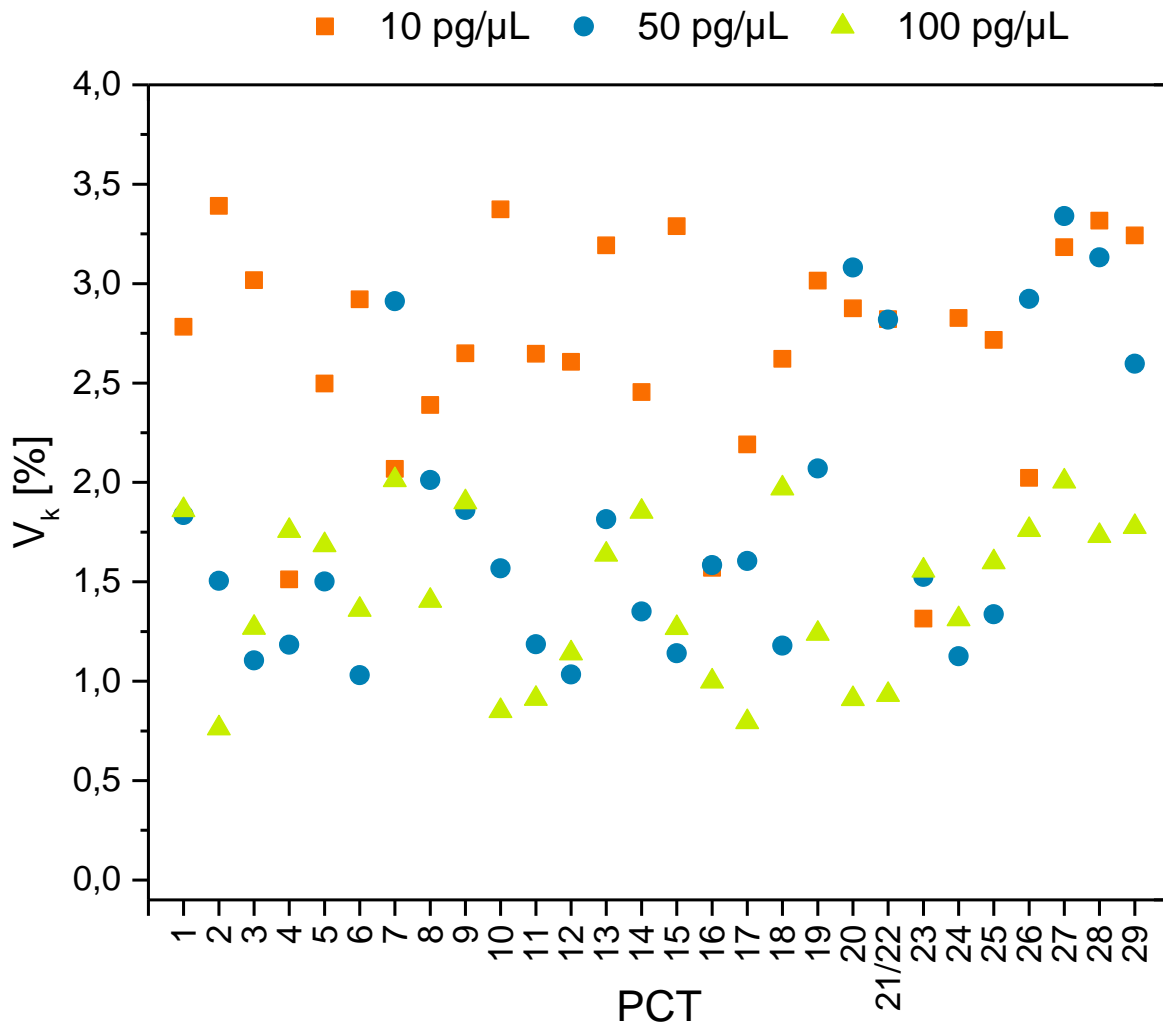


Abbildung 45: Variationskoeffizienten der Mehrfachmessungen von 10 pg/μL, 50 pg/μL und 100 pg/μL

Die Variationskoeffizienten der 10 pg/μL-Mehrfachmessung befanden sich in einem Bereich von 1,3% bis 3,4%. Bei der 50 pg/μL-Mehrfachbestimmung wurden im Durchschnitt niedrigere Variationskoeffizienten bestimmt; der Bereich variierte von 1,0% bis 3,3%. Die niedrigsten Variationskoeffizienten wurden bei der Mehrfachmessung des 100 pg/μL PCT-Mischstandards erzielt. Sie lagen in einem Bereich von 0,7% bis 2,0%. Wie zu erwarten, nahm die Messpräzision mit steigender Konzentration zu. Für chromatographische Methoden (GC, HPLC) werden in der Regel, unter Voraussetzung eines fehlerfreien Systems, Variationskoeffizienten $< 1\%$ erzielt [99].

5.3.6.2 Methodenpräzision

Die Methodenpräzision wurde bestimmt, indem die Verfahrenskoeffizienten zu den Analysen 1 bis 4 nach Gleichung (22), Kapitel 4.4.5 berechnet wurden. Auch hier erfolgte zunächst eine Überprüfung auf Normalverteilung (PG_{David}) und Vorhandensein von Ausreißern (PG_{Grubbs}). Die berechneten Prüfgrößen sind für die einzelnen PCT pro Analyse (A) in der Tabelle 69 aufgelistet. Bis auf zwei Ausnahmen, befanden sich alle berechneten PG_{David} -Werte für das Signifikanzniveau $P = 99\%$ innerhalb der vorgegebenen Grenze von 2,15 und 3,16. Der ermittelte Wert für PCT 23 aus Analyse 1 sowie der für PCT 17 aus Analyse 2 befanden sich innerhalb der Grenzen für das Signifikanzniveau $P = 99,9\%$, $1,83 < PG_{\text{David}} < 3,10$ (Tabelle 28, Kapitel 4.4.5). Somit können mit dem entsprechenden Signifikanzniveau alle Messwerte der jeweiligen Analysen als normalverteilt angenommen werden. Zudem konnten keine Ausreißer ermittelt werden, da alle berechneten PG_{Grubbs} -Werte $< 1,822$ waren ($P = 95\%$, Tabelle 29, Kapitel 4.4.5).

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 69: PG_{David} und PG_{Grubbs} der Analysen 1 bis 4

PCT	PG_{David} A1	PG_{David} A2	PG_{David} A3	PG_{David} A4	PG_{Grubbs} A1	PG_{Grubbs} A2	PG_{Grubbs} A3	PG_{Grubbs} A4
1	2,47	2,56	2,81	2,69	0,918	1,306	1,594	1,751
2	2,44	3,03	2,70	2,77	1,304	1,618	1,611	1,715
3	2,65	3,00	2,44	2,99	0,960	1,699	1,487	1,811
4	2,91	2,53	2,75	2,67	0,457	1,352	1,706	1,416
5	2,77	2,41	2,45	2,51	0,903	1,270	1,377	1,431
6	2,58	2,64	2,44	2,39	1,037	1,401	1,248	1,539
7	2,36	2,18	2,38	2,98	1,060	1,271	1,217	1,553
8	2,63	3,06	2,31	2,87	1,711	1,676	1,389	1,546
9	2,28	2,88	2,57	2,81	1,060	1,648	1,699	1,546
10	2,70	2,39	2,83	3,06	1,496	1,432	1,765	1,816
11	2,45	2,54	2,59	2,67	1,085	1,405	1,708	1,694
12	2,77	2,47	2,64	2,98	0,995	1,451	1,821	1,575
13	2,41	2,38	2,45	2,70	1,205	1,393	1,459	1,741
14	2,40	2,60	2,33	2,82	0,980	1,650	1,334	1,607
15	2,44	3,08	2,82	2,73	0,802	1,700	1,619	1,614
16	2,20	2,48	2,66	2,80	1,453	1,300	1,635	1,527
17	2,74	2,01	2,60	2,77	1,022	1,066	1,391	1,415
18	2,34	2,16	2,24	2,70	0,879	1,179	1,415	1,661
19	2,44	2,52	2,37	2,79	0,937	1,354	1,216	1,751
20	2,67	2,24	2,24	2,51	0,688	1,276	1,213	1,596
21/22	2,61	2,82	2,81	2,88	1,253	1,767	1,766	1,773
23	2,02	2,75	2,56	2,98	0,938	1,385	1,711	1,767
24	2,69	2,68	2,72	2,74	0,719	1,567	1,368	1,783
25	2,29	2,28	2,55	2,52	1,520	1,262	1,290	1,411
26	2,33	2,54	2,24	3,00	1,328	1,300	1,176	1,553
27	2,64	2,65	2,40	2,43	1,113	1,385	1,632	1,221
28	2,65	2,77	2,72	2,45	0,891	1,752	1,722	1,609
29	2,65	2,46	3,00	2,93	1,276	1,295	1,597	1,631

5 Ergebnisse und Diskussion

Im Anschluss daran konnten die Variationskoeffizienten jedes einzelnen PCT für die jeweilige Analyse mittels der in Kapitel 4.4.5 vorgestellten Gleichung (22) berechnet werden. Die erhaltenen Koeffizienten pro PCT und Analyse sind in der Abbildung 46 zusammengefasst.

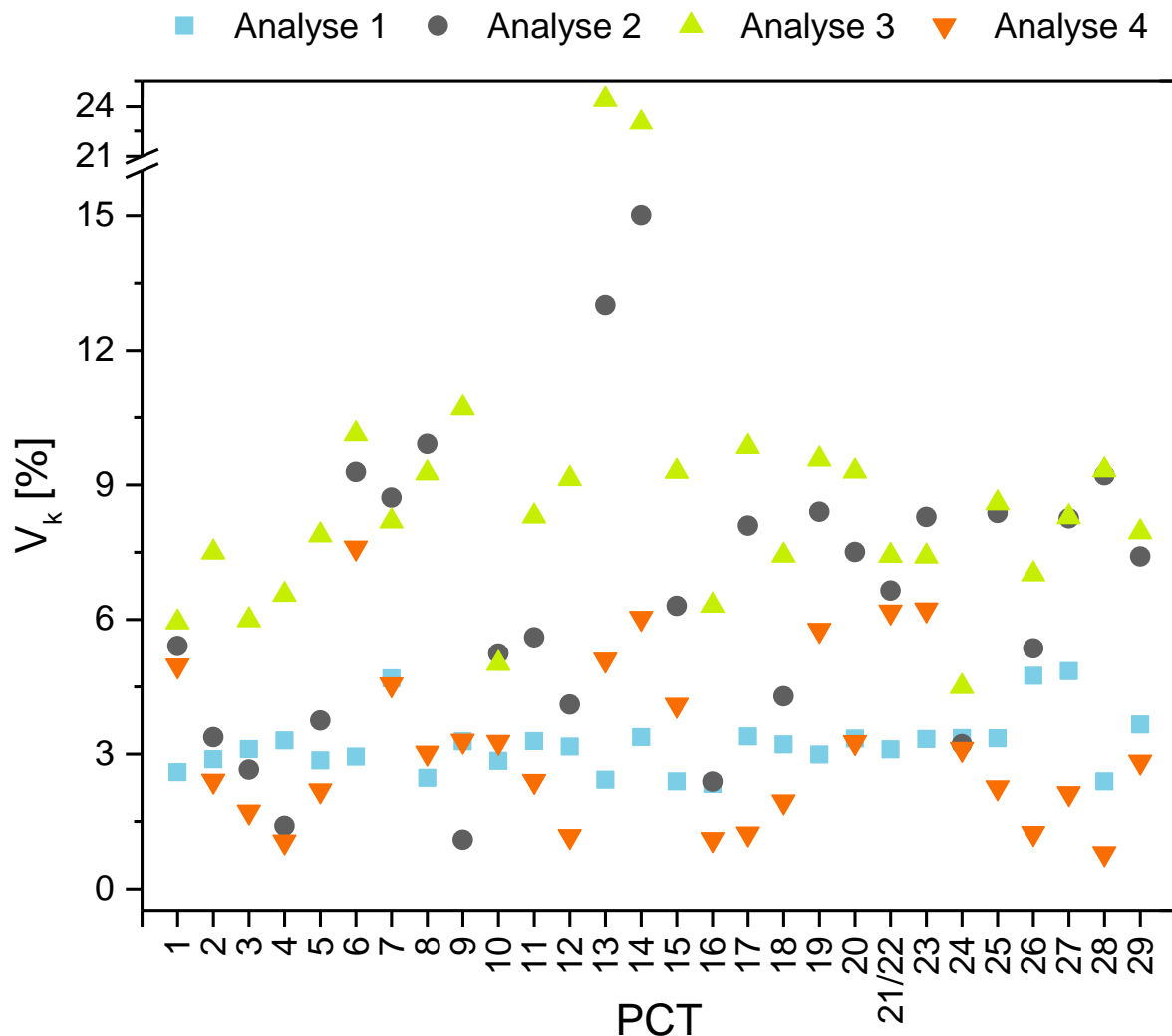


Abbildung 46: Variationskoeffizienten der Analysen 1 bis 4

Die im Durchschnitt niedrigsten Variationskoeffizienten wurden für die Analyse 4 ($\bar{V}_k = 2,9\%$), in der eine Fettprobe sechsfach analysiert wurde, sowie für die Analyse 1 ($\bar{V}_k = 3,2\%$), bei der ein Mischstandard, der zusätzlich zu den relevanten 29 PCT mit PCDD/F, PCB, PAK und nicht coplanaren PCT versetzt wurde, erhalten. Die Analyse 2, in der eine Brandprobe sechsfach analysiert wurde, wies einen durchschnittlichen Variationskoeffizienten von $6,5\%$ auf. Die größten Werte wurden bei der Analyse 3, bei der eine Bodenprobe in sechsfacher Bestimmung untersucht wurde, erzielt. Der durchschnittliche Wert betrug $\bar{V}_k = 8,2\%$. In der Umweltanalytik sind

5 Ergebnisse und Diskussion

Variationskoeffizienten von bis zu 10% üblich [99]. Daher kann diese Methode bezüglich der hier untersuchten Proben als ausreichend präzise angesehen werden. Die deutlichen Ausreißer von PCT 13 und PCT 14 bei der Brandprobe ($V_k = 13\%$ bzw. 14%) und der Bodenprobe ($V_k = 24\%$ bzw. 23%) sind auf die nicht konstanten Durchbrüche in die erste Fraktion der Florisil-Säule zurückzuführen.

5.3.7 Richtigkeit

Um die Richtigkeit der Methode zu überprüfen, wurden die erhaltenen Messwerte der Analyse 1 bis 4 gemittelt und die Standardabweichungen berechnet. Mit diesen Werten wurde nach Gleichung (26), Kapitel 4.4.7 der t -Wert berechnet und der Sollwert- t -Test durchgeführt. Die erhaltenen t -Werte pro PCT für die einzelnen Analysen sind in der Tabelle 70 aufgeführt. Darin wurden die Werte nach folgendem Schema markiert: $t_{\text{gefunden}} \leq 2,571 = \text{grün}$ ($P = 95\%$); $t_{\text{gefunden}} \leq 4,032 = \text{blau}$ ($P = 99\%$); $t_{\text{gefunden}} \leq 6,869 = \text{orange}$ ($P = 99,9\%$).

Tabelle 70: t-Werte der Analysen 1 bis 4

PCT	t-Wert Analyse 1	t-Wert Analyse 2	t-Wert Analyse 3	t-Wert Analyse 4
1	0,049	2,070	0,741	0,423
2	8,905	8,143	2,357	3,709
3	7,750	13,291	4,325	9,960
4	3,515	38,879	3,945	19,570
5	6,587	2,782	0,822	1,518
6	0,014	0,598	2,194	5,344
7	6,907	3,530	8,856	8,028
8	28,931	4,679	7,014	16,857
9	6,036	4,499	0,486	0,616
10	10,305	22,960	17,418	26,713
11	6,822	15,833	8,504	21,041
12	6,776	13,231	4,510	24,139
13	38,266	28,485	22,437	59,622
14	43,280	35,420	33,962	78,331
15	11,388	6,671	3,297	8,154
16	13,757	16,285	4,769	14,082
17	13,249	32,457	24,495	132,756
18	3,851	19,036	8,180	21,217
19	0,641	2,302	1,671	5,313
20	3,544	3,907	1,511	0,573
21/22	0,585	3,656	0,021	0,306
23	4,111	7,218	8,885	0,470
24	6,482	15,767	7,302	11,142
25	0,908	2,897	0,119	4,325
26	11,630	4,457	6,105	29,493
27	11,153	4,181	4,961	22,681
28	10,338	2,469	1,373	32,439
29	19,532	7,403	9,619	25,671

Auch bei Wahl des größten Signifikanzniveaus würde die Hälfte der Ergebnisse als „nicht richtig“ gelten. Dieses Problem kann bei „zu“ präzisen Methoden auftreten [99]. Anhand eines Vergleichs der Analyse 1 und 3 von PCT 2 lässt sich diese Aussage

5 Ergebnisse und Diskussion

verdeutlichen. In Tabelle 71 sind die ermittelten Konzentrationen (c), gemittelten Wiederfindungsraten (\emptyset WFR), Variationskoeffizienten (V_k) und t -Werte (t_{gefunden}) für PCT 2 der Analyse 1 und 3, die jeweils sechsfach durchgeführt wurden, gegenübergestellt.

Tabelle 71: Vergleich der Ergebnisse zwischen Analyse 1 und 3 für PCT 2

Analysendurchgang	Analyse 1 c [pg/ μ L]	Analyse 3 c [pg/ μ L]
1	44,45	42,84
2	43,55	46,91
3	45,74	43,51
4	44,44	45,60
5	46,74	48,66
6	46,62	52,27
s	1,31	3,50
\emptyset WFR [%]	91	93
V_k [%]	2,9	7,5
t_{gefunden}	8,905	2,357
Ergebnis	nicht richtig ($> 2,571$, $P = 95\%$)	richtig ($< 2,571$, $P = 95\%$)

Beide Analysen zeigten ähnlich gute Wiederfindungsraten, wobei die Messwerte der Analyse 3 mehr streuen als die der Analyse 1. Nach Überprüfung des ermittelten t -Wertes würden bei einem Signifikanzniveau von 95% die Ergebnisse der Analyse 1 als „nicht richtig“ beurteilt werden müssen, obwohl diese Analyse mit einem kleineren Variationskoeffizienten die höhere Präzision zeigte. Aufgrund der größeren Streuung der Messwerte der Analyse 3 ergibt sich ein t -Wert von 2,357, womit dieser folglich kleiner als der in der t -Tabelle angegebene Wert wäre und damit die Ergebnisse als richtig angesehen werden müssten. Zur Verdeutlichung der Problematik ist die Streuung der Messwerte der Analyse 1 und 3 für PCT 2 in Abhängigkeit des Sollwertes in der Abbildung 47 graphisch dargestellt.

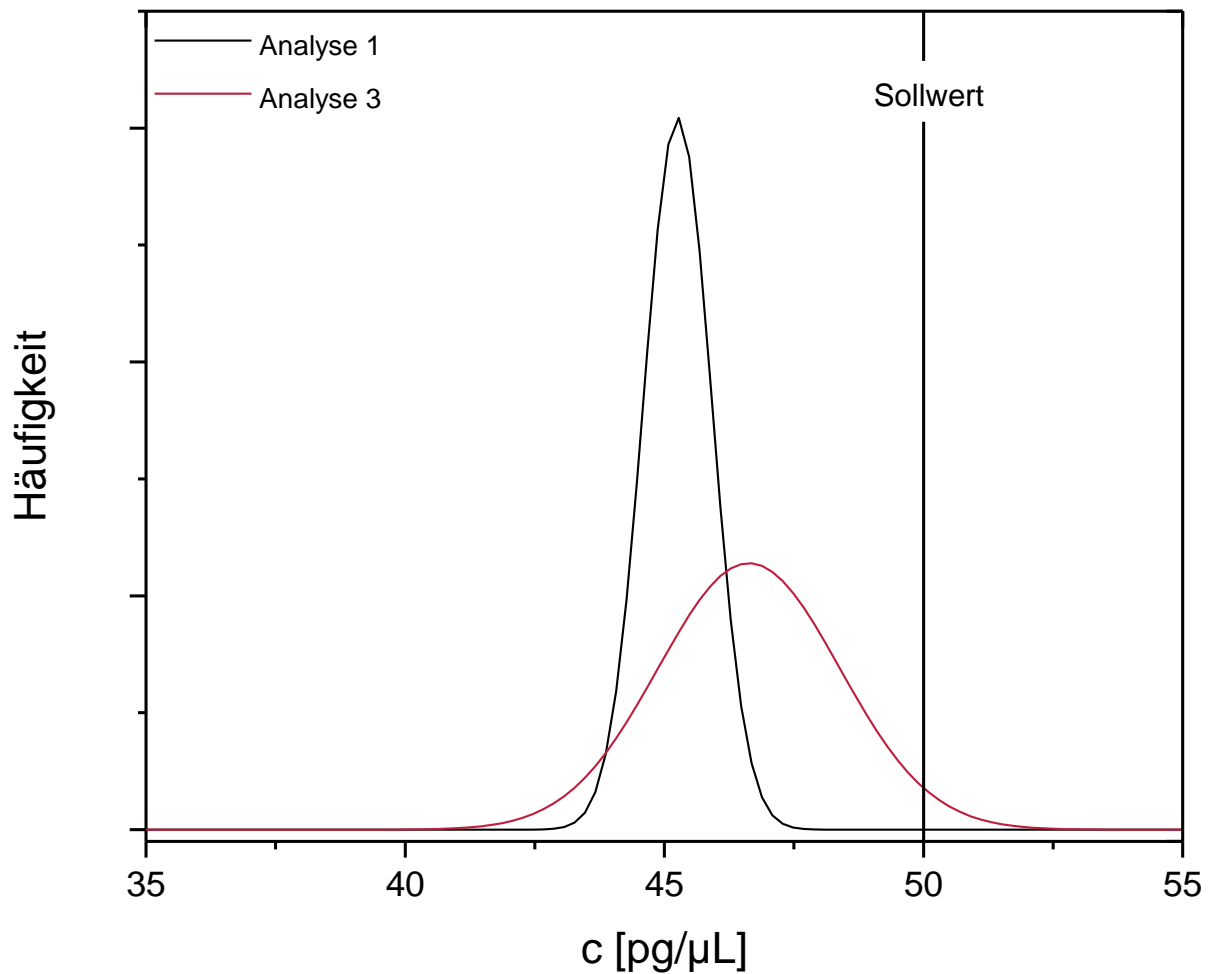


Abbildung 47: Streuung der Messwerte der Analysen 1 und 3 für PCT 2

In der Abbildung 47 ist zu erkennen, dass der Mittelwert der Analyse 1 sich wesentlich vom Sollwert unterscheidet, während die breite Streuung der Ergebnisse der Analyse 3 dazu führt, dass sich die Werte der Sollkonzentration annähern. Damit zeigt sich, dass der Sollwert-*t*-Test alleine zur Beurteilung der Ergebnisse nicht ausreicht, sondern die Parameter Präzision und Wiederfindungsrate eine wesentliche Rolle spielen.

5.4 HPLC-Florisil

Um eine weitere Optimierung des Analysenverfahrens vorzunehmen, wurden Versuche unternommen, die Trennung der 29 coplanaren PCT-Indikator congenere mittels der selbstgepackten Florisil-Säule durch eine HPLC-Florisil-Säule zu ersetzen. Hierfür wurde zum späteren Vergleich zunächst eine Versuchsreihe mit der klassischen selbstgepackten Florisil-Säule durchgeführt. Es wurden 100 μL des in Kapitel 4.1.3 hergestellten 500 $\text{pg}/\mu\text{L}$ PCT-Mischstandards auf die Florisil-Säule gegeben. Die Versuchsreihe beinhaltete drei Durchgänge. Die GC/MS-Ergebnisse wurden mit der Kalibrierung 3 (Tabelle 62, Kapitel 5.3.2) ausgewertet. Die erhaltenen Konzentrationen sind der Tabelle A 9 im Anhang zu entnehmen. Es wurden die Wiederfindungsraten nach Gleichung (25), Kapitel 4.4.6 berechnet und für die drei Durchgänge gemittelt.

In Abbildung 48 sind die Wiederfindungsraten für jedes PCT-Kongener graphisch aufgetragen.

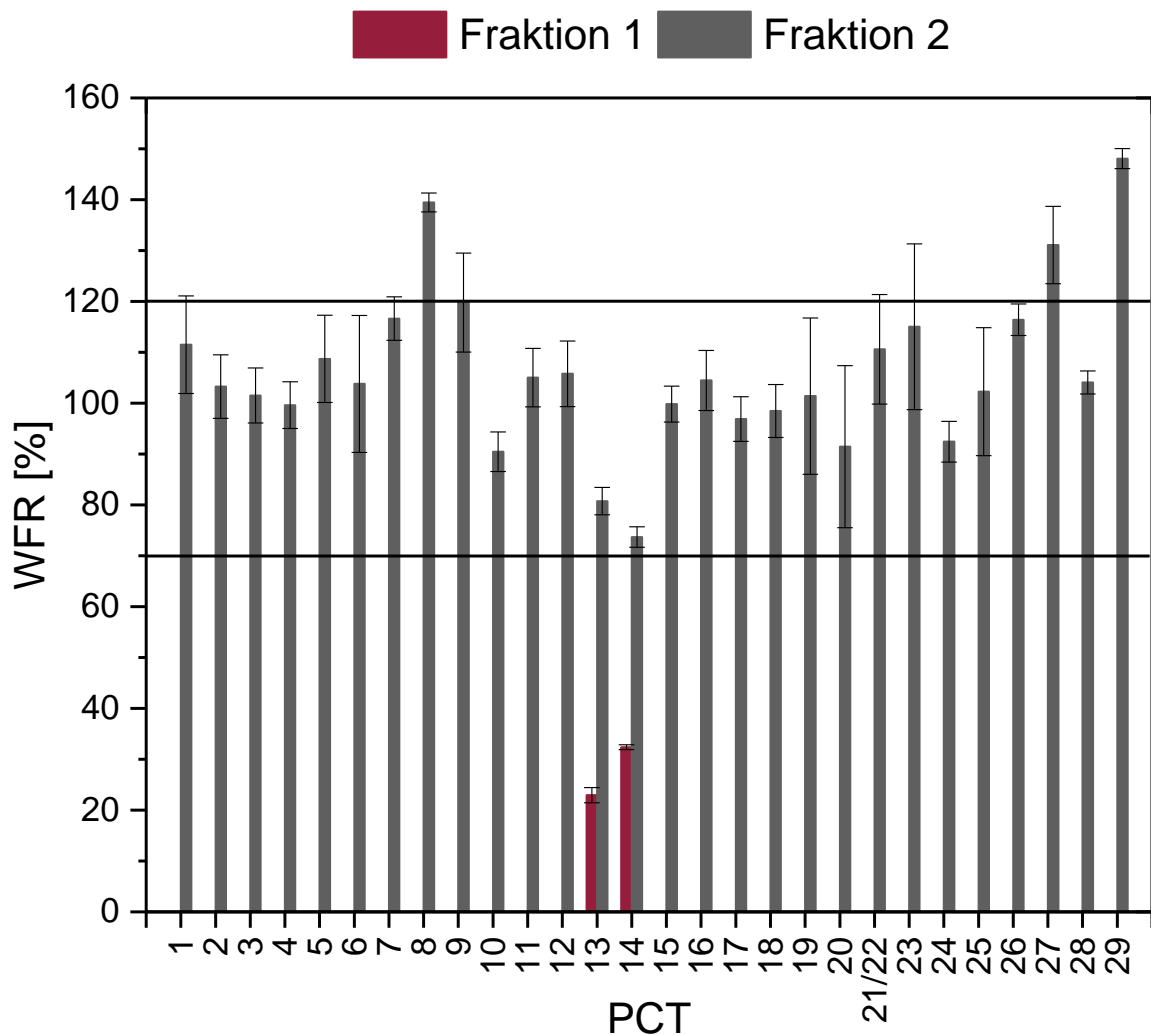


Abbildung 48: Wiederfindungsraten der 29 PCT nach Trennung mittels der klassischen Florisil-Säule

Es fanden Durchbrüche in die erste Fraktion von PCT 13 (23%) und PCT 14 (32%) statt. In der zweiten Fraktion traten sie mit Wiederfindungen von 81% und 74% auf. Die anderen coplanaren Kongenere befanden sich wie erwartet nur in der zweiten Fraktion. Die hexachlorierten Terphenyle PCT 8 und PCT 27 sowie das heptachlorierte PCT 29 zeigten erhöhte Wiederfindungen von 139%, 131% und 148%. Bei den restlichen PCT wurden gute Wiederfindungen um 100% erreicht.

5 Ergebnisse und Diskussion

Für das erste HPLC Florisil-Experiment wurden 100 μL des 500 $\text{pg}/\mu\text{L}$ PCT-Mischstandards in das HPLC-System injiziert und mit den in Tabelle 33, Kapitel 4.5 aufgelisteten Parametern eluiert. Dieser Durchgang wurde insgesamt dreimal durchgeführt. Das resultierte Chromatogramm ist in Abbildung 49 dargestellt.

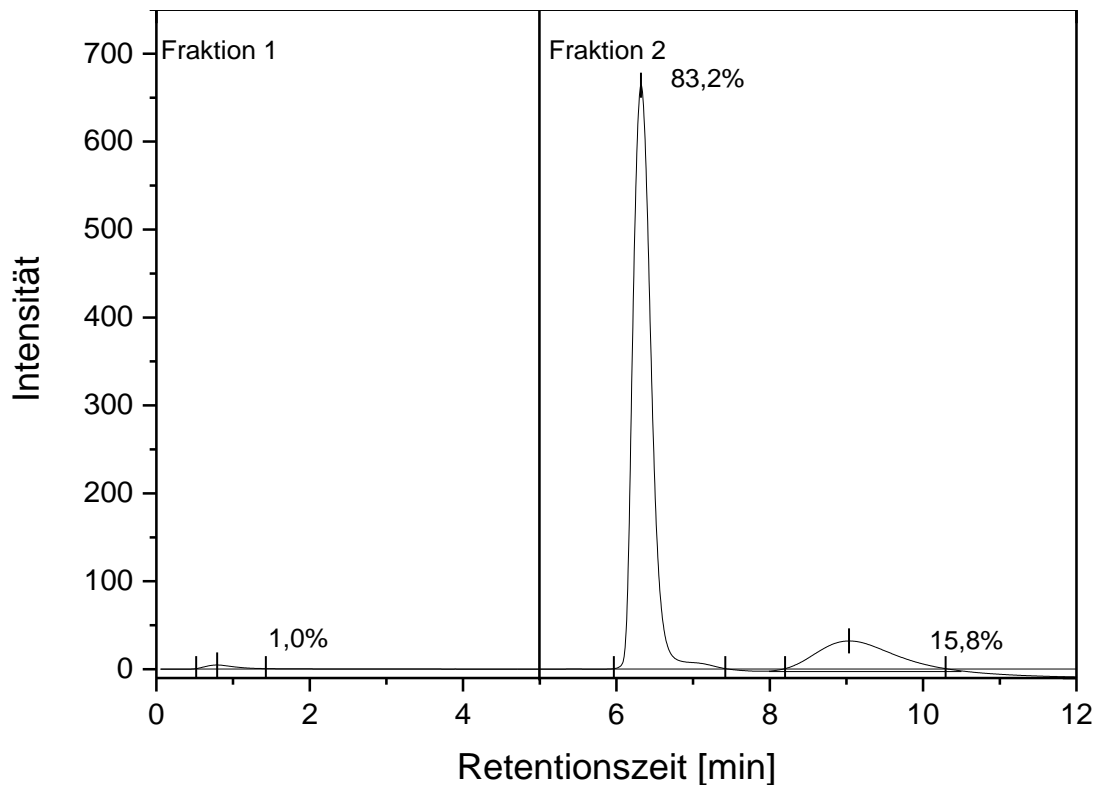


Abbildung 49: Chromatogramm, erhalten aus dem ersten HPLC Florisil-Experiment mit Angabe der prozentualen Anteile der Peakflächen

Beide Fraktionen wurden mit Hilfe eines Fraktionssammlers aufgefangen, auf 1 mL eingeeengt und mittels der GC/MS-Methode (Tabelle 56, Kapitel 5.2) gemessen. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Kalibrierung 3 (Tabelle 62, Kapitel 5.3.2). Die berechneten Konzentrationen sind in der Tabelle A 10 im Anhang zu finden. Die Ermittlung der Wiederfindungsraten erfolgte nach Gleichung (25), Kapitel 4.4.6.

In Abbildung 50 sind die gemittelten Wiederfindungsraten jedes PCT-Kongeners graphisch aufgetragen.

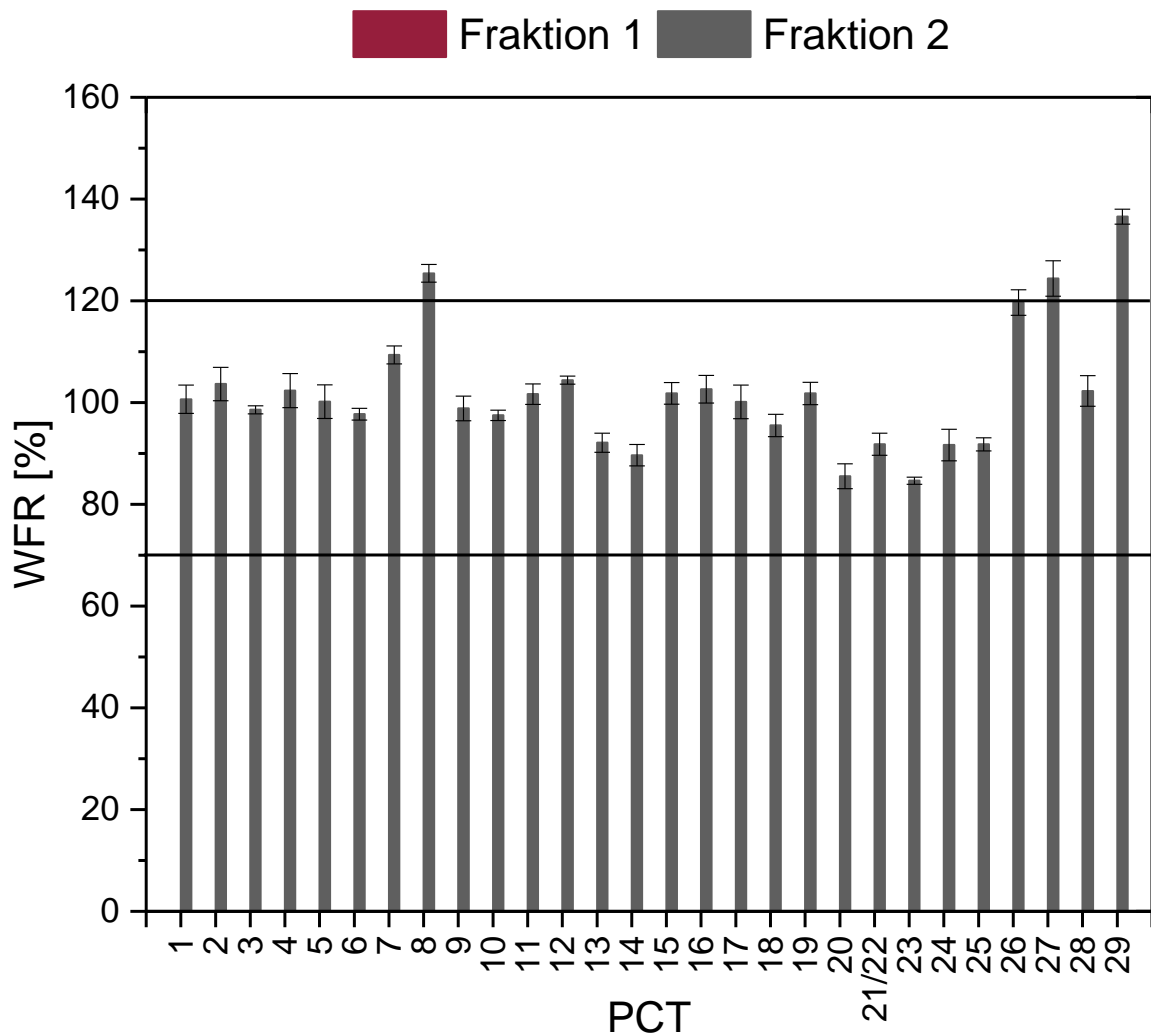


Abbildung 50: Wiederfindungsraten der 29 PCT, ermittelt aus dem ersten HPLC Florisil-Experiment

Alle 29 coplanaren Indikatorkongenere wurden ausschließlich in der zweiten Fraktion der HPLC-Florisil-Säule gefunden. Der Median aller Wiederfindungsraten liegt bei 100%. Deutliche Ausreißer stellen wieder nur die hexachlorierten PCT 8 (125%) und PCT 27 (124%) sowie das heptachlorierte PCT 29 (137%) dar.

Um zu überprüfen, ob eine eindeutige Trennung zwischen nicht coplanaren und coplanaren PCT-Kongeneren mittels der HPLC-Florisil-Säule erzielt werden kann, wurde ein zweites Experiment vorgenommen. Hierfür wurden 100 µL eines 500 pg/µL-PCT-Mischstandards, der zusätzlich mit fünf nicht coplanaren PCT (Tabelle 27, Kapitel 4.4.4) versetzt war, in das HPLC-System injiziert und mit den in

5 Ergebnisse und Diskussion

Tabelle 33, Kapitel 4.5 aufgeführten Parametern eluiert. Dieser Vorgang wurde dreimal wiederholt. Das erhaltene Chromatogramm ist in Abbildung 51 dargestellt.

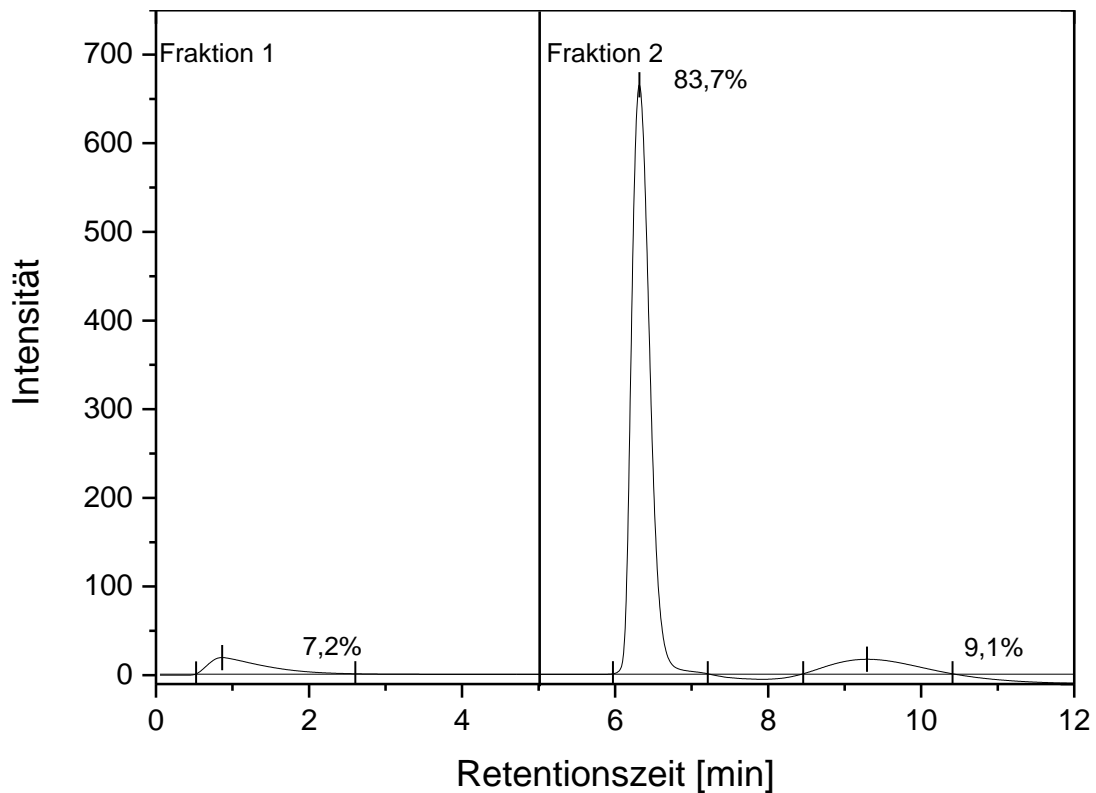


Abbildung 51: Chromatogramm, erhalten aus dem zweiten HPLC Florisil-Experiment mit Angabe der prozentualen Anteile der Peakflächen

Mit Hilfe eines Fraktionssammlers wurden beide Fraktionen aufgefangen, auf 1 mL eingeeengt und mittels der GC/MS-Methode (Tabelle 56, Kapitel 5.2) gemessen. Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit Kalibrierung 4 (Tabelle 64, Kapitel 5.3.2). Die berechneten Konzentrationen sind in der Tabelle A 11 im Anhang zu finden. Die Wiederfindungsraten wurden nach Gleichung (25), Kapitel 4.4.6 berechnet.

In Abbildung 52 sind die gemittelten Wiederfindungsraten jedes coplanaren und nicht coplanaren PCT-Kongeners graphisch dargestellt.

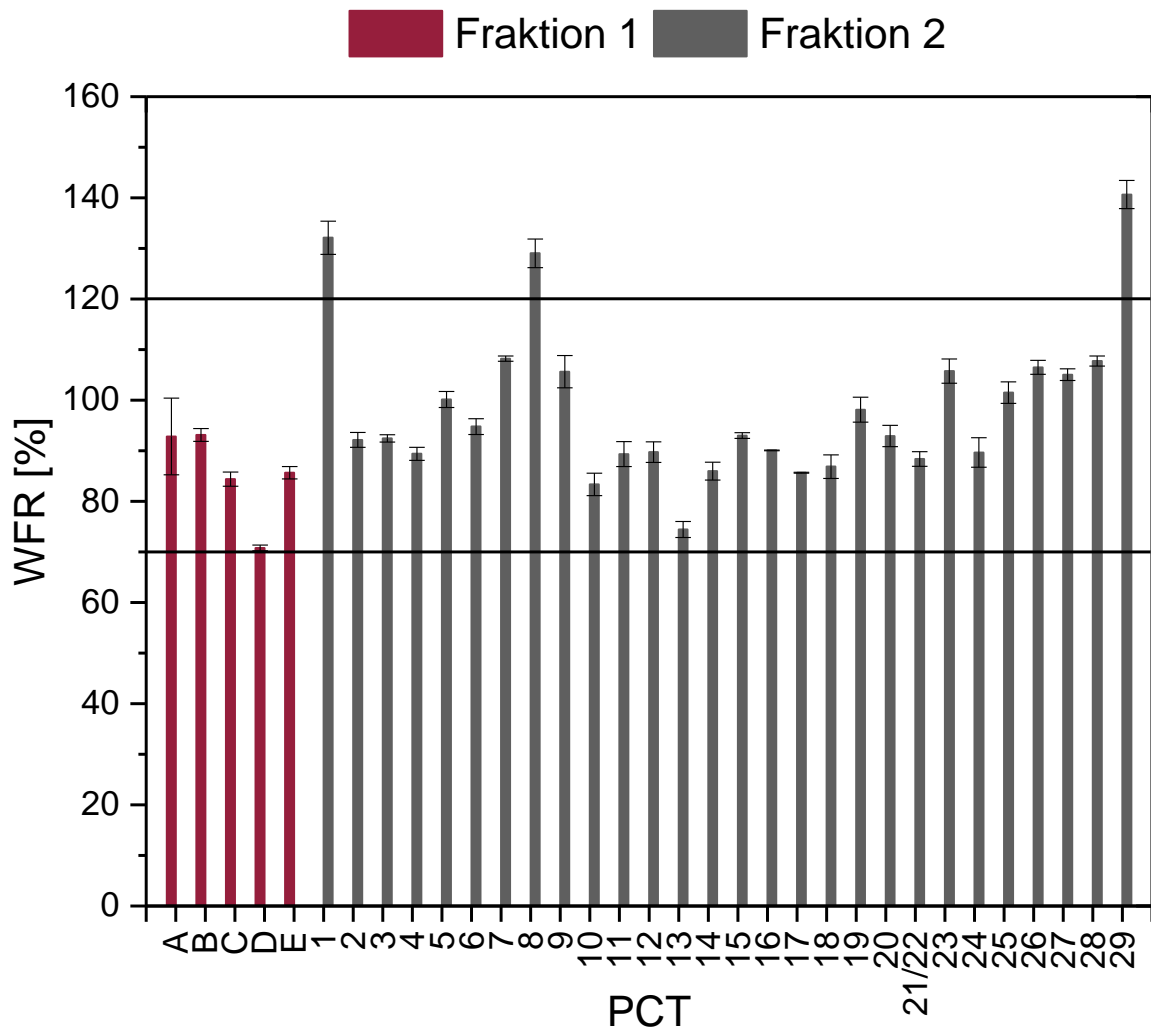


Abbildung 52: Wiederfindungsraten der 29 PCT und fünf nicht-coplanaren PCT, ermittelt aus dem zweiten HPLC Florisil-Experiment

Es fand eine Trennung der fünf nicht coplanaren PCT von den 29 coplanaren PCT statt. Bis auf PCT 1 (132%), PCT 8 (129%) und PCT 29 (141%) befinden sich die Wiederfindungsraten zwischen 70% und 120%. Die viel dichtere Packung der HPLC Florisil-Säule, bedingt durch die mechanische Füllung unter Druck sowie der kleineren Körnung des dabei verwendeten Florisils (100-200 mesh versus 60-100 mesh bei der selbstgepackten Säule) bewirkten wahrscheinlich die vollständige Elution von PCT 13 und PCT 14 in der zweiten Fraktion, die zuvor in den Analysen 1 bis 4 Durchbrüche in die erste Fraktion gezeigt hatten.

5 Ergebnisse und Diskussion

Um Aussagen über die Präzision treffen zu können, sind in der Abbildung 53 die Variationskoeffizienten jedes einzelnen PCT von allen drei Florisil-Versuchen gegeneinander aufgetragen.

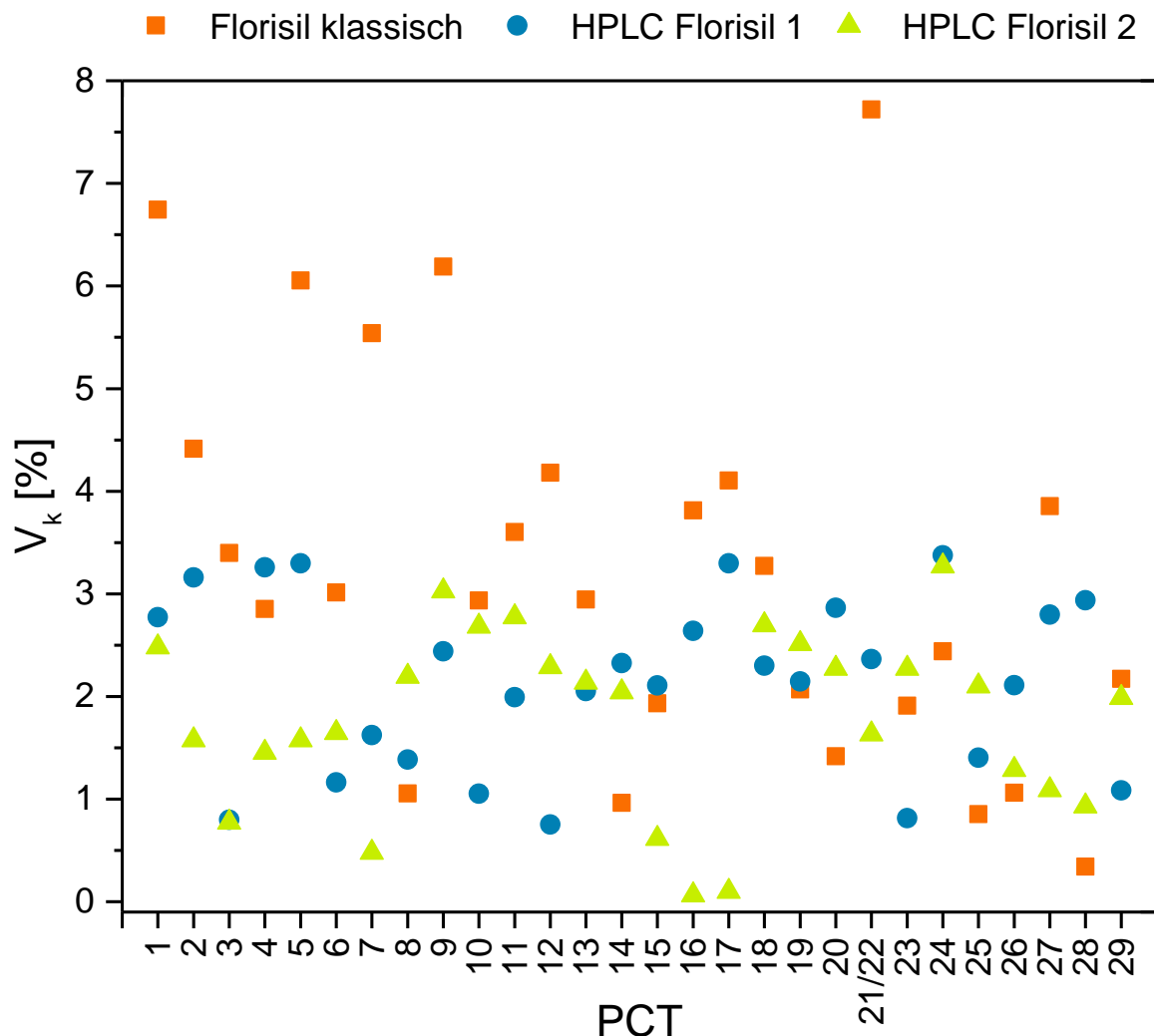


Abbildung 53: Variationskoeffizienten ermittelt aus den Florisil-Experimenten

Es ist deutlich zu erkennen, dass die HPLC-Methode eine höhere Präzision als die selbstgepackte Florisil-Säule aufweist. Ein Vergleich der gemittelten Variationskoeffizienten macht diesen Befund nochmals deutlich. Für die klassische Variante wurde ein $V_k = 3,2\%$ ermittelt, für die beiden HPLC-Versuche $V_k = 2,2\%$ bzw. $V_k = 1,8\%$. Da bei der HPLC-Methode bei jeder Analyse die gleichen Bedingungen (dieselbe Säule, Flussrate, Temperatur etc.) vorlagen, während bei der selbstgepackten Variante die Packungsdichten und Flussraten zwischen den verschiedenen Säulen schwanken können, entsprach dieses Ergebnis den Erwartungen.

Hiermit wurde ein erster Anhaltspunkt geschaffen, dass die HPLC-Florisil-Säule gut die klassische selbstgepackte Florisil-Säule substituieren könnte. Dieses Ergebnis müsste jedoch in weiteren Versuchen mittels ursprünglich matrixbelasteter Proben und Realproben verifiziert werden. Der Einsatz der HPLC-Florisil-Säule würde die Chromatographiedauer von ca. 8 h auf 12 min reduzieren sowie den Lösemittelverbrauch von 750 mL auf 36 mL senken. Ein weiterer Vorteil wäre die Wiederverwendbarkeit der Säule, womit reproduzierbarere Bedingungen gegenüber der selbstgepackten Säule geschaffen werden könnten.

5.5 Bewertung der Ergebnisse und Ausblick

Alle vier Analysen, die mit der selbst gepackten Florisil-Säule durchgeführt wurden, zeigten einen Substanzdurchbruch von PCT 13 und PCT 14 in die erste Fraktion der Florisil-Säule. Die Wiederfindungsraten für PCT 13 betrugen 27% bis 45% und für PCT 14 30% bis 50%. Dieser Befund korreliert mit den berechneten Diederwinkeln der PCT (Tabelle 72). Diese beiden PCT weisen die größten Winkel auf, sodass sie in der kavitären Florisil-Schichtstruktur offenbar schlechter zurückgehalten werden. Jedoch kann an dieser Stelle nicht geklärt werden, warum beispielsweise PCT 24 ausschließlich in der zweiten Fraktion auftrat. Unter Berücksichtigung des Winkels hätte es ebenfalls teilweise in der ersten Fraktion vorliegen müssen. Dieser Befund wird bei Wichmann et al. [84] beschrieben, wo die Florisil-Säule exemplarisch anhand von PCT 4, 5 und 12 sowie dem nicht coplanaren PCT C getestet wurde. Dort wurde zudem ein Durchbruch von PCT 12 in die erste Fraktion beobachtet. Die inhomogenen Befunde können an der Wahl der Körnung des Florisils für die selbstgepackte Säule liegen (60-100 mesh). Bei größeren Diederwinkeln scheint das Florisil nicht mehr in der Lage zu sein, die PCT konsistent in der Schicht zurückzuhalten. Für die HPLC-Florisil-Säule wurde ein Material mit einer kleineren Körnung (100-200 mesh) eingesetzt, welches alle relevanten 29 PCT ausschließlich in die zweite Fraktion eluieren ließ. Daher sollte auch bei Einsatz der selbstgepackten Florisil-Säule auf die kleinere Körnung umgestellt werden, um so voraussichtlich eine konstante Trennung der coplanaren von den nicht coplanaren PCT zu erzielen.

Tabelle 72: Sortierung der PCT nach Diederwinkelgröße

PCT	Winkel 1	PCT	Winkel 2
5	39,59°	7	39,88°
7	39,66°	5	39,90°
2	40,00°	15	40,09°
3	40,04°	1	40,24°
1	40,23°	8	40,37°
6	40,27°	3	40,53°
8	40,38°	2	40,78°
10	40,69°	4	40,89°
22	40,81°	6	40,91°
4	40,88°	27	41,05°
19	40,93°	25	41,07°
11	40,96°	16	41,14°
25	40,97°	29	41,25°
17	40,98°	17	41,45°
15	41,02°	11	41,46°
27	41,05°	20	41,46°
12	41,14°	9	41,47°
26	41,15°	18	41,47°
28	41,17°	19	41,51°
16	41,20°	26	41,52°
29	41,25°	14	41,53°
23	41,26°	21	41,66°
21	41,38°	22	41,71°
20	41,46°	24	41,78°
9	41,47°	12	41,82°
14	41,53°	10	41,84°
18	41,71°	23	41,89°
13	41,77°	28	41,95°
24	41,78°	13	41,98°

Ein weiterer Aspekt, der bei allen Analysen inklusive der HPLC-Florisil-Testreihe auf-
fiel, ist die Tatsache, dass ein ansteigender Trend der Wiederfindungsraten von tetra-
bis heptachlorierte PCT zu beobachten war. Dadurch zeigten PCT 8 (Ø 131%),
PCT 27 (Ø 122%) und PCT 29 (Ø 140%) in der Regel Überbefunde. Dieses Resultat
liegt vermutlich daran, dass das 1,2,3,4-Tetrachlornaphthalin, das als Einspritzstan-
dard diente, die Peakflächen der höher chlorierten PCT nicht genügend korrigierte.
Hier wäre der Einsatz eines zweiten Einspritzstandards, wie beispielsweise Octa-
chlornaphthalin, das zu einer späteren Zeit retardiert, zu überdenken.

Wiederfindungsraten können in Abhängigkeit von der Analytkonzentration bewertet
werden (Tabelle 73) [108]. Die Dotierungslevels für die artifiziell hergestellten Proben
betrugen 10 µg/kg (Brandprobe), 5 µg/kg (Bodenprobe) und 50 µg/kg (Fettprobe).

Tabelle 73: Akzeptable Wiederfindungsraten in Abhängigkeit der Konzentration des Analyten [108]

Analytkonzentration [µg/kg]	WFR [%]
100	80-110
10	60-115
1	40-120

Werden die oben besprochenen Unter-/Überbefunde ausgeklammert, so wurden für
den Großteil der relevanten 29 coplanaren PCT zufriedenstellende Wiederfindungen
zwischen 70 und 120% erzielt, wobei kein signifikanter Unterschied zwischen den
hier eingesetzten Matrices festgestellt werden konnte. Dieses Ergebnis bestätigt die
Arbeit von Wichmann et al. aus dem Jahre 2010 [5], in der mit artifiziell hergestellten
Brand-, Boden- und Fettproben anhand von u.a. PCT 5 und 8 das Analysekonzept
exemplarisch getestet wurde.

Durch Berechnung der Variationskoeffizienten der einzelnen Analysen konnte die
Methodenpräzision bewertet werden. Die im Durchschnitt niedrigsten Variations-
koeffizienten wurden bei der Analyse der Fettprobe (Ø Vk = 2,9%) sowie bei der
Überprüfung der Spezifität (Ø Vk = 3,2%) erzielt. Die Fettprobe war von den artifiziell
hergestellten Matrices das homogenste Material, wodurch eine gute Reproduzierbar-
keit gegeben war. Die Analyse der Spezifität wurde in reinem Lösungsmittel durchge-
führt, wodurch keine störenden Matrixeffekte vorhanden waren. Die Analyse der
Brandprobe wies einen durchschnittlichen Variationskoeffizienten von 6,48% auf. Die

5 Ergebnisse und Diskussion

schlechtesten Werte wurden bei der Analyse der Bodenprobe erzielt ($\emptyset V_k = 8,2\%$), was darauf schließen lässt, dass diese Probe am komplexesten war. Da in der Umweltanalytik Variationskoeffizienten von bis zu 10% üblich sind [99], kann diese Methode dennoch als ausreichend präzise angesehen werden. Unter Berücksichtigung der Wiederfindungsraten und der Methodenpräzision kann trotz Auswertung des Sollwert-*t*-Testes die Richtigkeit der Methode bestätigt werden [99].

Weiterführende Arbeiten könnten die Robustheit der Methode untersuchen, indem laborinterne Vergleiche sowie Ringversuche durchgeführt werden. Des Weiteren ist es notwendig, die Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze für verschiedene Matrices zu ermitteln und anhand derer weitere Dotierungslevel zu untersuchen. Zur Überprüfung der Anwendbarkeit der Methode sollten Realproben analysiert werden. Hierzu wurden erste Untersuchungen im Rahmen einer parallel zu dieser Arbeit betreuten Masterarbeit durchgeführt. Als Realproben dienten Kabelbrandreste, Sediment aus der Lippe (Nordrhein-Westfalen) und Fettgewebe eines Schweinswals, der stellvertretend für die Endglieder der marinen Nahrungsketten stehen sollte. In allen drei Probenmatrices wurden, neben einer Vielzahl von nicht-coplanaren PCT, Vertreter der hier ausgewählten Referenzsubstanzen detektiert. Hierbei wies die Schweinswalprobe die höchste Anzahl an Referenz-PCT auf (PCT 1, 3, 4, 8, 9, 11, 12, 14, 16 und 20). Damit wurde exemplarisch gezeigt, dass die Analysenmethode auf komplexe Matrices anwendbar ist [128].

6 Zusammenfassung

PCT sind persistente, lipophile, schwerflüchtige und bioakkumulierende Substanzen, die offenbar ein hohes toxikologisches Schadpotential aufweisen. Sie sind chemisch wie strukturell eng verwandt mit den PCB. In der Vergangenheit wurden ca. 60.000 t PCT weltweit produziert und größtenteils in offenen Systemen, wie beispielsweise in Schmier- und Dichtungsmitteln oder Isolier- und Flammenschutzbeschichtungen, eingesetzt. Zudem werden sie, wie andere chlororganische Verbindungen, bei Verbrennungsprozessen gebildet und freigesetzt. Des Weiteren wurden sie z.B. als Nebenprodukt bei der Kupfer-katalysierten Herstellung von Vinylchlorid nachgewiesen. Dadurch existieren zahlreiche Primär- und Sekundärquellen, aus denen heraus PCT fortwährend in die Umwelt emittiert werden und Mensch und Tier gefährden. Sie wurden durch Umweltmonitoring bereits in Böden und Gewässern, Fischen, Vögeln, marinen und terrestrischen Säugetieren sowie in humanem Fettgewebe, Blut und der Muttermilch nachgewiesen.

Die Analytik der PCT ist jedoch durch die hohe Anzahl an 8557 Kongeneren erschwert. Die bisherigen Ansätze verwendeten technische PCT-Mischungen wie z.B. Aroclor 5460 als Referenz für überwiegend GC/ECD-Messungen, wodurch es zu Fehlerabweichungen bei der Quantifizierung um bis zu 500% kam. Im IÖNC wurde ein Konzept für ein PCT-Analysenverfahren entwickelt, das den Einsatz von 29 Referenzsubstanzen vorsieht. Diese PCT sind tetra- bis heptachloriert und weisen keine Substitution in ortho-Position auf, wodurch sie leicht eine coplanare Konformation einnehmen können. Im Vergleich zu ihren strukturellen Verwandten sollten diese PCT toxikologisch am relevantesten sein. Nach einem gründlichen säulenchromatographischen Clean-Up, das in Anlehnung an die PCDD/F-Analytik entwickelt wurde, können diese durch den Einsatz einer Florisil-Säule abgetrennt und mittels GC/MS gemessen werden.

Im IÖNC und im Arbeitskreis von Prof. Hopf der TU Braunschweig wurden bereits 12 der relevanten 29 PCT synthetisiert und deren spektroskopische Daten veröffentlicht. Von den Substanzen standen noch neun für diese Arbeit zur Verfügung. Daher wurden im Rahmen dieser Arbeit zunächst die fehlenden 20 PCT-Kongeneren mittels Suzuki-Kupplung synthetisiert. Nach säulenchromatographischer Reinigung des Rohproduktes und anschließender präparativer HPLC konnte das Zielkongener mit einer GC/MS-Reinheit von 100% gewonnen werden. Die Charakterisierung der Substanzen erfolgte mittels GC/MS, ^1H - und ^{13}C -NMR-Spektroskopie sowie ATR-

6 Zusammenfassung

FTIR-Spektroskopie. Die experimentell erhaltenen IR-Spektren stimmten mit den zuvor im IÖNC mittels GAUSSIAN berechneten IR-Spektren gut überein.

Um eine Isotopenmarkierung der 29 Referenzsubstanzen vornehmen zu können, wurden Deuterierungsversuche in verschiedenen deuterierten Lösungsmitteln und Deuteriumoxid als Deuterierungsreagenz, mit/ohne Metallkatalysator unter Mikrowellenbestrahlung zur Erzeugung hoher Temperaturen und Drücke durchgeführt. Diese Ansätze führten jedoch zu keinem Erfolg, sodass noch weiterer Forschungsbedarf auf diesem Gebiet besteht.

Die nachfolgende Methodenvvalidierung wurde mit den 29 PCT-Indikatorkongeneren durchgeführt. Um die Selektivität der Methode zu erreichen, musste zunächst eine GC/MS-Methodenoptimierung vorgenommen werden, wodurch es möglich war, 27 von den 29 relevanten PCT zu trennen. PCT 21 und PCT 22 konnten gaschromatographisch nicht getrennt werden und wurden daher als Summe behandelt. Es wurden 2 pg/μL als Nachweisgrenze, 4 pg/μL als Erfassungsgrenze und 6 pg/μL als Bestimmungsgrenze für die PCT-Kongeneren im reinen Lösungsmittel mittels der GC/MS-Methode erreicht. Die Messpräzision wurde bestimmt, indem sechsfache GC/MS-Messungen eines 10 pg/μL, 50 pg/μL sowie 100 pg/μL PCT-Mischstandards durchgeführt und jeweils die Variationskoeffizienten ermittelt wurden. Erwartungsgemäß nahm die Messpräzision mit steigender Konzentration zu: $V_{k\ 10\ \text{pg}/\mu\text{L}} = 1,3 - 3,4\%$, $V_{k\ 50\ \text{pg}/\mu\text{L}} = 1,0 - 3,3\%$ und $V_{k\ 100\ \text{pg}/\mu\text{L}} = 0,7 - 2,0\%$. Unter Berücksichtigung der Komplexität der Stoffgruppe wurde eine akzeptable Messpräzision erreicht. Um quantitative Aussagen treffen zu können, wurden insgesamt vier Kalibrierreihen genutzt, die alle Kriterien der Linearität erfüllten. Zur Überprüfung der Spezifität wurde eine Analyse mit sechs Durchgängen mit einem PCT-Mischstandard, der mit PCDD/PCDF, PCB, PAK sowie nicht coplanaren PCT versetzt war, durchgeführt und die Wiederfindungsraten bestimmt. Es wurden Wiederfindungsraten zwischen 84% (PCT 17) und 115% (PCT 7) erreicht. Überbefunde wurden bei den hexachlorierten Kongeneren PCT 8 (141%), PCT 26 (129%) und PCT 27 (128%) sowie bei dem heptachlorierten PCT 29 (141%) detektiert. PCT 13 und PCT 14 eluierten zum Teil in die erste Fraktion der Florisil-Säule, wodurch die Wiederfindungsraten der zweiten Fraktion nur 72% bzw. 63% betrugen. Die Analyse der 29 PCT in Gegenwart von analytähnlichen Verbindungen wurde somit erfolgreich getestet, sodass die Spezifität der Methode gemäß der hier durchgeführten Testreihen gegeben war. Es wurden drei Analysen mit jeweils sechs Durchgängen mit artifiziellen Umweltproben durchge-

führt und die Wiederfindungsraten bestimmt. Die Proben bestanden aus Holzkohle, Boden und Speiseöl, die jeweils mit dem PCT-Mischstandard dotiert wurden. Sie stellten stellvertretend eine Brand-, Boden sowie Fettprobe dar. Es wurden Wiederfindungsraten zwischen 70 und 120% erzielt. Jedoch eluierten PCT 13 und PCT 14 teilweise in die erste Fraktion. Daher befanden sich ihre Wiederfindungsraten in der zweiten Fraktion im Durchschnitt bei 41% und 46%. Oberhalb von 120% befanden sich PCT 8 (\emptyset 128%), PCT 27 (\emptyset 123%) und PCT 29 (\emptyset 139%), deren Überbefunde durch die Wahl eines besser für sie geeigneten Einspritzstandards korrigiert werden könnten. Alle vier Analysen zeigten einen Durchbruch von PCT 13 und PCT 14 in die erste Fraktion der Florisil-Säule. Diese beiden PCT weisen die größten Diederwinkel auf, weshalb sie vermutlich durch die Florisil-Schichtstruktur schlechter zurückgehalten werden können. Die Methodenpräzision wurde durch Berechnung des Variationskoeffizienten für jede Analyse überprüft. Die im Durchschnitt niedrigsten Variationskoeffizienten wurden bei der Analyse der Fettprobe (\emptyset Vk = 2,9%) sowie bei der Überprüfung der Spezifität (\emptyset Vk = 3,2%) erzielt. Die Analyse der Brandprobe wies einen durchschnittlichen Variationskoeffizienten von 6,48% auf. Die höchsten Werte wurden bei der Analyse der Bodenprobe erzielt (\emptyset Vk = 8,2%). Da in der Umweltanalytik Variationskoeffizienten von bis zu 10% üblich sind, kann diese Methode als ausreichend präzise und richtig angesehen werden. Damit konnte die Methodenvalidierung erfolgreich abgeschlossen werden, wodurch die Analysenmethode für weiterführende umweltchemische, toxikologische und ökotoxikologische Untersuchungen einsatzfähig ist. Zudem wurde eine HPLC-Florisil-Methode entwickelt, mit der es möglich ist, die klassische selbstgepackte Florisil-Säule zu ersetzen. Neben der enormen Zeit- und Lösemittelersparnis zeigte diese Methode zusätzlich noch den Vorteil, dass alle 29 PCT-Referenzsubstanzen ausschließlich in der zweiten Fraktion eluierten.

In einer parallel durchgeführten Masterarbeit wurde die hier vorgestellte Analysenmethode auf komplexe reale Umweltmatrices getestet, wobei ein Drittel der 29 PCT in den Proben gefunden worden ist. Damit konnte exemplarisch gezeigt werden, dass die Methode auf reale Proben anwendbar ist und PCT nach wie vor in der Umwelt zu finden sind.

7 Literatur

- [1] Fent, K. (2013): Ökotoxikologie. Umweltchemie - Toxikologie - Ökologie. Thieme Verlag, Stuttgart, 4. Auflage.
- [2] Boer, J. de (2000): New Types of Persistent Halogenated Compounds. In: Paasivirta, J., The Handbook of Environmental Chemistry, Volume 3, Anthropogenic Compounds, Part K. Springer Verlag, Berlin.
- [3] Ballschmiter, K., Bacher, R. (1996): Dioxine. Chemie, Analytik, Vorkommen, Umweltverhalten und Toxikologie der halogenierten Dibenzo-p-dioxine und Dibenzofurane. VCH Verlag, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo.
- [4] Kloster, G., Reisinger, K. (1990): Laboratory scale pyrolysis experiments using halogenated benzenes. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 17 (4), 357–369.
- [5] Wichmann, H., Vogt, R., Pontaka, D., Wibowo, A., Bahadir, M. (2010): Congener specific analysis of polychlorinated terphenyls. *Chemosphere* 78 (6), 680–687.
- [6] Birn, H., Jung, G. (1993): Abfallbeseitigungsrecht für die betriebliche Praxis. Teil 18, Kap. 5: Polychlorierte Biphenyle und polychlorierte Terphenyle. WEKA Verlag, Augsburg.
- [7] Remberg, G., Sandra, P., Nyiry, W., Winkler, N., Nikiforov, A. (1998): Calculation of the polychlorinated terphenyl congener distribution and gas chromatographic retention behavior of selected single standards on four stationary liquid phases. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* 362 (4), 404–408.
- [8] Jamieson, J. W. S. (1977): Polychlorinated terphenyls in the environment. Environmental Protection Service, Ottawa.
- [9] Kok, A. D., Geerdink, R. B., Vries, G. D., Brinkman, U. A. Th. (1982): An Evaluation of Chromatographic Methods for the Analysis of Polychlorinated Terphenyls in Environmental Samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 12 (2), 99–122.
- [10] Crummett, W. B., Townsend, D. I. (1984): The trace chemistries of fire hypothesis: Review and update. *Chemosphere* 13 (7), 777–788.
- [11] Stieglitz, L., Vogg, H.: Formation and Decomposition of Polychlorodibenzodioxins and -furans in Municipal Waste Incineration. Kernforschungszentrum Karlsruhe, KfK 4379.

- [12] Eklund, G., Pedersen, J. R., Strömberg, B. (1988): Methane, hydrogen chloride and oxygen form a wide range of chlorinated organic species in the temperature range 400 °C–950 °C. *Chemosphere* 17 (3), 575–586.
- [13] Fiedler, H. (1993): Formation and sources of PCDD/PCDF. *Organohalogen Compounds* 11, 221–228.
- [14] Benfenati, E., Mariani, G., Fanelli, R., Zuccotti, S. (1991): “De novo” synthesis of PCDD, PCDF, PCB, PCN and PAH in a pilot incinerator. *Chemosphere* 22 (11), 1045–1052.
- [15] Huang, H., Buekens, A. (1996): De novo synthesis of polychlorinated dibenzop-dioxins and dibenzofurans Proposal of a mechanistic scheme. *Science of The Total Environment* 193 (2), 121–141.
- [16] McKay, G. (2002): Dioxin characterization, formation and minimization during municipal solid waste (MSW) incineration: review. *Chemical Engineering Journal* 86 (3), 343–368.
- [17] Hasberg, W., Römer, R. (1988): Organische Spurenschadstoffe in Brennräumen von Anlagen zur thermischen Entsorgung. *Chemie Ingenieur Technik* 60 (6), 435–443.
- [18] Gonser, S., Köhler, J., Weber, R. (2017): Biomonitoring von PCB und PCDD/F in Bayern: Ergebnisse aus 18 Jahren Dauerbeobachtung. *Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie* 23 (2), 35–39.
- [19] Miao, X., Chu, S., Xu, X. (1999): Degradation pathways of PCBs upon UV irradiation in hexane. *Chemosphere* 39 (10), 1639–1650.
- [20] Wingender, R. J., Williams, R. M. (1984): Evidence for the Long-Distance Atmospheric Transport of Polychlorinated Terphenyl. *Environmental Science & Technology* 18 (0), 625–628.
- [21] Hale, R. C., Enos, C., Gallagher, K. (1998): Sources and Distribution of Polychlorinated Terphenyls at a Major US Aeronautics Research Facility. *Environmental Management* 22 (6), 937–945.
- [22] Risebrough, R. W., Lappe, B. W. de, Youghans-Hang (1990): PCB and PCT Contamination in Winter Quarters Bay, Antarctica. *Marine Pollution Bulletin* 21 (11), 523–529.
- [23] Buchert, H., Bihler, S., Schott, P., Röper, H. P., Pachur, H. J., Ballschmiter, K. (1981): Organochlorine pollutant analysis of contaminated and uncontami-

- nated sediments by high resolution gas chromatography. *Chemosphere* 10 (9), 945–956.
- [24] Furlong, E. T., Carter, D. S., Hites, R. A. (1988): Organic Contaminants in Sediments from the Trenton Channel of the Detroit River, Michigan. *Journal of Great Lakes Research* 14 (4), 489–501.
- [25] Grimalt, J. O. (1991): Distributions of river-transported halogenated biphenyls and terphenyls on coastal environments. *Chemosphere* 23 (3), 327–341.
- [26] Wang, J., Caccamise, S. A., Wu, L., Woodward, L. A., Li, Q. X. (2011): Spatial distribution of organochlorine contaminants in soil, sediment, and fish in Bikini and Eniwetok Atolls of the Marshall Islands, Pacific Ocean. *Chemosphere* 84 (7), 1002–1008.
- [27] Wester, P. G., Boer, J. de, Brinkmann, U. A. T. (1996): Determination of Polychlorinated Terphenyls in Aquatic Biota and Sediment with Gas Chromatography/Mass Spectrometry Using Negative Chemical Ionization. *Environmental Science & Technology* 30 (2), 473–480.
- [28] Stratton, C. L., Sosebee, J. B. (1976): PCB and PCT contamination of the environment near sites of manufacture and use. *Environmental Science & Technology* 10 (13), 1229–1233.
- [29] Nakamura, N., Uchimura, T., Watanabe-Ezoe, Y., Imasaka, T. (2011): Polychlorinated Aromatic Hydrocarbons in a Soil Sample Measured Using Gas Chromatography/Multiphoton Ionization/Time-of-Flight Mass Spectrometry. *Analytical Sciences* 27 (6), 617–622.
- [30] Freudenthal, J., Greve, P. A. (1973): Polychlorinated terphenyls in the environment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 10 (2), 108–111.
- [31] Seidel, U., Schweizer, E., Schweinsberg, F., Wodarz, R., Rettenmeier, A. W. (1996): Occurrence of polychlorinated terphenyls (PCTs) in indoor particulate matter. *Environmental Health Perspectives* 104 (11), 1172–1179.
- [32] Thomas, G. H., Reynolds, L. M. (1973): Polychlorinated terphenyls in paper-board samples. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 10 (1), 37–41.
- [33] Ubukata, M., Jobst, K. J., Reiner, E. J., Reichenbach, S. E., Tao, Q., Hang, J., Wu, Z., Dane, A. J., Cody, R. B. (2015): Non-targeted analysis of electronics waste by comprehensive two-dimensional gas chromatography combined with

- high-resolution mass spectrometry: Using accurate mass information and mass defect analysis to explore the data. *Journal of Chromatography A* 1395, 152–159.
- [34] Gallagher, K., Hale, R. C., Greaves, J., Bush, E. O., Stilwell, D. A. (1993): Accumulation of polychlorinated terphenyls in aquatic biota of an estuarine creek. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 26 (3), 302–312.
 - [35] Jobst, K. J., Shen, L., Reiner, E. J., Taguchi, V. Y., Helm, P. A., McCrindle, R., Backus, S. (2013): The use of mass defect plots for the identification of (novel) halogenated contaminants in the environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 405 (10), 3289–3297.
 - [36] Rosenfelder, N., Vetter, W. (2014): Polychlorinated terphenyl patterns and levels in selected marine mammals and a river fish from different continents. *Environment International* 62, 119–124.
 - [37] Santos, F. J., Galceran, M. T. (1996): Characterization of Polychlorinated Terphenyl Mixtures by High Resolution Gas Chromatography and Tandem Mass Spectrometry. *Rapid Communications in mass spectrometry* 10, 1774–1780.
 - [38] Doguchi, M., Fukano, S., Ushio, F. (1974): Polychlorinated terphenyls in the human fat. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 11 (2), 157–158.
 - [39] Piñeiro, E., Lozano, J. S., Yusty, A. L., González-Barros, C. (1996): Comparison of two extraction methods for determination of PCBs and PCTs in mussels from Galicia. *Talanta* 43 (3), 487–491.
 - [40] Renberg, L., Sundström, G., Reutergardh, L. (1978): Polychlorinated terphenyls (PCT) in Swedish white-tailed eagles and in grey seals - a preliminary study. *Chemosphere* 7 (6), 477–482.
 - [41] Hassel, K. D., Holmes, D. C. (1977): Polychlorinated terphenyls (PCT) in some British birds. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 17 (5), 618–621.
 - [42] Zitko, V., Hutzinger, O., Jamieson, W. D., Choi, P. M. K. (1972): Polychlorinated terphenyls in the environment. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 7 (4), 200–201.
 - [43] Kylin, H., Hammar, J., Mowrer, J., Bouwman, H., Edelstam, C., Olsson, M., Jensen, S. (2015): Persistent organic pollutants in biota samples collected during the Ymer-80 expedition to the Arctic. *Polar Research* 34 (1), 1–11.

- [44] González-Barros, C., Alvarez Piñeiro, M. E., Simal Lozano, J., Lage Yusty, M. A. (1997): PCBs and PCTs in wolves (*Canis lupus*, L) in Galicia (N.W. Spain). *Chemosphere* 35 (6), 1243–1247.
- [45] Jensen, A. A., Jørgensen, K. F. (1983): Polychlorinated terphenyls (PCTs) use, levels and biological effects. *Science of The Total Environment* 27 (2-3), 231–250.
- [46] Doguchi, M. (1977): Polychlorinated terphenyls as an environmental pollutant in Japan. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (1), 239–248.
- [47] Fukano, S., Doguchi, M. (1977): PCT, PCB and pesticide residues in human fat and blood. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 17 (5), 613–617.
- [48] Watanabe, I., Yakushiji, T., Kunita, N. (1980): Distribution differences between polychlorinated terphenyls and polychlorinated biphenyls in human tissues. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 25 (1), 810–815.
- [49] Fernández, M. A., Hernández, L. M., González, M., Eljarrat, E., Caixach, J., Rivera, J. (1998): Analysis of polychlorinated terphenyls in marine samples. *Chemosphere* 36 (14), 2941–2948.
- [50] Addison, R. F., Fletcher, F. L., Ray, S., Doane, J. (1972): Analysis of a chlorinated terphenyl (Aroclor 5460) and its deposition in tissues of cod. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 1 (8), 52–60.
- [51] Carlos Sosa-Lucero, J., de la Iglesia, F. A., Thomas, G. H. (1973): Distribution of a polychlorinated terphenyl (PCT) (Aroclor® 5460) in rat tissues and effect on hepatic microsomal mixed function oxidases. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 10 (4), 248–256.
- [52] Jan, J., Josipovic, D. (1978): Polychlorinated terphenyls in hens - the behavior of ortho-, meta- and para- isomers. *Chemosphere* 7 (11), 863–866.
- [53] Sekita, H., Takeda, M., Ushiyama, M. (1975): Accumulation of PCT in tissues of mice after long-term feeding of Kanechlor-C. *Journal of Hygienic Chemistry* 21 (6), 307–312.
- [54] Fishbein, L. (1974): Toxicity of Chlorinated Biphenyls. *Annual Review of Pharmacology* 14 (1), 139–156.
- [55] Allen, J. R., Norback, D. H. (1973): Polychlorinated Biphenyl- and Triphenyl- Induced Gastric Mucosal Hyperplasia in Primates. *Science* 179, 498–499.

- [56] Shirai, T., Miyata, Y., Nakanishi, K., Murasaki, G., Ito, N. (1978): Hepatocarcinogenicity of polychlorinated terphenyl (PCT) in ICR mice and its enhancement by hexachlorobenzene (HCB). *Cancer Letters* 4, 271–275.
- [57] Cecil, H. C., Bitman, J., Lillie, R. J., Fries, G. F., Verrett, J. (1974): Embryotoxic and teratogenic effects in unhatched fertile eggs from hens fed polychlorinated biphenyls (PCBs). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 11 (6), 489–495.
- [58] Kholkute, S. D., Rodriguez, J., Dukelow, W. R. (1994): The effects of polybrominated biphenyls and perchlorinated terphenyls on in vitro fertilization in the mouse. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 26 (2), 208–211.
- [59] Barouki, R., Coumoul, X., Fernandez-Salguero, P. M. (2007): The aryl hydrocarbon receptor, more than a xenobiotic-interacting protein. *FEBS letters* 581 (19), 3608–3615.
- [60] Nilsen, O., Toftgard, R. (1981): Effects of polychlorinated terphenyls and paraffins on rat liver microsomal cytochrome P-450 and in vitro metabolic activities. *Archives of Toxicology* 47 (1), 1–11.
- [61] Sosa-Lucero, J. C., de la Iglesia, F. A., Thomas, G. H. (1973): Distribution of a polychlorinated terphenyl (PCT) (Aroclor® 5460) in rat tissues and effect on hepatic microsomal mixed function oxidases. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 10 (4), 248–256.
- [62] Toftgard, R., Nilsen, O., Carlstedt-Duke, J., Glaumann, H. (1986): Polychlorinated terphenyls: Alterations in liver morphology and induction of cytochrome P-450. *Toxicology* 41, 131–144.
- [63] Pieper, A., Vogt, R., Wichmann, H., Bahadir, M. (2003): Polychlorinated terphenyls (PCT) - A poorly investigated class of POPs. *Fresenius Environmental Bulletin* 12 (6), 503–510.
- [64] Pieper, A., Vogt, R., Wichmann, H., Bahadir, M. (2003): Synthese und Verhalten von Polychlorierten Terphenylen (PCT) bei thermischer Belastung. *Mitteilungen der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie* 9 (4), 6–8.
- [65] Putnam, T. B., Gulan, M. P., Bills, D. D., Libbey, L. M. (1974): Gas chromatography and mass spectrometry of polychlorinated terphenyls (Aroclor 5460). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 11 (4), 309–311.

- [66] Bordajandi, L. R., Ramos, J. J., Sanz, J., Gonzalez, M. J., Ramos, L. (2008): Comprehensive two-dimensional gas chromatography in the screening of persistent organohalogenated pollutants in environmental samples. *Journal of Chromatography A* 1186 (1-2), 312–324.
- [67] Korytár, P., Leonards, P., Boer, J. de, Brinkman, U. (2005): Group separation of organohalogenated compounds by means of comprehensive two-dimensional gas chromatography. 2nd International Symposium on Comprehensive Multidimensional Gas Chromatography 1086 (1–2), 29–44.
- [68] Rosenfelder, N., Vetter, W. (2012): A calculation mode for the correct GC/ECNI-MS-SIM determination of polychlorinated terphenyls in the presence of high excesses of polychlorinated biphenyls. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 404 (6-7), 2105–2111.
- [69] Vetter, W., Kirres, J., Bendig, P. (2012): Synthesis of polychlorinated terphenyl mixtures and gas chromatography with mass spectrometry data of tetra- to octachlorinated ortho-, meta-, and para-terphenyls. *Journal of Chromatography A* 1263, 151–157.
- [70] Ballschmiter, K., Zell, M. (1980): Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* 302 (1), 20–31.
- [71] Deutsches Institut für Normung e.V. (2008): DIN EN 15308 - Charakterisierung von Abfällen - Bestimmung ausgewählter polychlorierter Biphenyle (PCB) in festem Abfall unter Anwendung der Kapillar-Gaschromatographie mit Elektreneneinfang-Detektion oder massenspektrometrischer Detektion.
- [72] Deutsches Institut für Normung e.V. (2006): DIN EN 1948-1 - Emissionen aus stationären Quellen - Bestimmung der Massenkonzentration von PCDD/PCDF und dioxin-ähnlichen PCB - Teil 1: Probennahme von PCDD/PCDF.
- [73] Deutsches Institut für Normung e.V. (2006): DIN EN 1948-2 - Emissionen aus stationären Quellen - Bestimmung der Massenkonzentration von PCDD/PCDF und dioxin-ähnlichen PCB - Teil 2: Extraktion und Reinigung von PCDD/PCDF.
- [74] Deutsches Institut für Normung e.V. (2006): DIN EN 1948-3 - Emissionen aus stationären Quellen - Bestimmung der Massenkonzentration von PCDD/PCDF und dioxin-ähnlichen PCB - Teil 3: Identifizierung und Quantifizierung von PCDD/PCDF.

- [75] Deutsches Institut für Normung e.V. (2006): DIN EN 1948-4 - Emissionen aus stationären Quellen - Bestimmung der Massenkonzentration von PCDD/PCDF und dioxin-ähnlichen PCB - Teil 4: Probennahme und Analyse dioxin-ähnlicher PCB.
- [76] Deutsches Institut für Normung e.V. (2012): DIN ISO 16000-14 - Innenraumluftverunreinigungen – Teil 14: Bestimmung der Summe gasförmiger und partikelgebundener polychlorierter dioxin-ähnlicher Biphenyle (PCB) und polychlorierter Dibenzo-p-dioxine/Dibenzofurane (PCDD/PCDF) – Extraktion, Reinigung und Analyse mit hochauflösender Gaschromatographie und Massenspektrometrie.
- [77] US Environmental Protection Agency (1979): Water-related environmental fate of 129 priority pollutants, Vol. I, EPA-440/4-79-029a; Vol. II, EPA-440/4-79-029b. Washington, D.C.
- [78] Deutsches Institut für Normung e.V. (2006): DIN ISO 18287 - Bodenbeschaffenheit – Bestimmung der polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffe (PAK) – Gaschromatographisches Verfahren mit Nachweis durch Massenspektrometrie (GC-MS).
- [79] Deutsches Institut für Normung e.V. (2014): DIN ISO 28540 - Wasserbeschaffenheit – Bestimmung von 16 polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) in Wasser – Verfahren mittels Gaschromatographie und massenspektrometrischer Detektion (GC-MS).
- [80] Dettmer, F.T., Wichmann, H., Bahadir, M. (1998): Optimization of dioxin clean up by using lignite coke - silica gel columns and solvent substitutions. *Fresenius Environmental Bulletin* (7), 216–223.
- [81] Ebert, J., Lorenz, W., Bahadir, M. (1999): Optimization of the analytical performance of polybrominated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PBDD/F). *Chemosphere* 39 (6), 977–986.
- [82] Jüttner, F. (2013): Synthese ausgewählter PCT-Kongenere und ihre spektroskopische und chromatographische Charakterisierung. Diplomarbeit, Technische Universität Braunschweig.
- [83] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, G. Scalmani, V. Barone, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, X. Li, M. Caricato, A. Marenich, J. Bloino, B. G. Janesko, R. Gomperts, B. Mennucci, H. P. Hratchian, J. V. Ortiz, A. F. Izmaylov, J. L. Sonnenberg, D. Williams-Young,

- F. Ding, F. Lipparini, F. Egidi, J. Goings, B. Peng, A. Petrone, T. Henderson, D. Ranasinghe, V. G. Zakrzewski, J. Gao, N. Rega, G. Zheng, W. Liang, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, T. Vreven, K. Throssell, J. A. Montgomery, Jr., J. E. Peralta, F. Ogliaro, M. Bearpark, J. J. Heyd, E. Brothers, K. N. Kudin, V. N. Staroverov, T. Keith, R. Kobayashi, J. Normand, K. Raghavachari, A. Rendell, J. C. Burant, S. S. Iyengar, J. Tomasi, M. Cossi, J. M. Millam, M. Klene, C. Adamo, R. Cammi, J. W. Ochterski, R. L. Martin, K. Morokuma, O. Farkas, J. B. Foresman, and D. J. Fox, Gaussian (2009): Gaussian 09, Revision A.02. Gaussian, Inc., Wallingford CT.
- [84] Wichmann, H., Schäfer, K., Ibrom, K., Jüttner, F., Saatz, J., Vogt, R., Bahadir, M. (2015): Synthesis of coplanar PCT as reference substances for the residue analysis of polychlorinated terphenyls. *Chemosphere* 137, 157–165.
- [85] Bahadir, M., Pieper, A., Vogt, R., Wichmann, H., Grunenberg, J., Hopf, H. (2003): Isomer specific synthesis using the Suzuki-coupling. Polychlorinated terphenyls as standards for environmental analysis. *Chemosphere* 50 (9), 1151–1156.
- [86] Hopf, H., Carjila, A., Ernst, L. (2007): Preparation and NMR Spectroscopy of Selected Polychlorinated *meta*-Terphenyls. *CLEAN-Soil, Air and Water* 35 (5), 433–437.
- [87] Nakatsu, K., Brien, J. F., Taub, H., Racz, W. J., Marks, G. S. (1982): Gram quantity synthesis and chromatographic assessment of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl. *Journal of Chromatography A* 239, 97–106.
- [88] Cadogan, J. I. G., Roy, D. A., Smith, D. M. (1966): An alternative to the Sandmeyer reaction. *Journal of the Chemical Society C: Organic* (0), 1249–1250.
- [89] Chittim, B., Safe, S., Ruzo, L. O., Hutzinger, O., Zitko, V. (1977): Synthesis and spectroscopic and gas chromatographic behavior of chlorinated terphenyls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25 (2), 323–326.
- [90] Fanta, P. E. (1974): The Ullmann Synthesis of Biaryls. *Synthesis* 38 (1), 9–21. and spectroscopic and gas chromatographic behavior of chlorinated terphenyls. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 25 (2), 323–326.
- [91] Lehmler, H.-J., Robertson, L. W. (2001): Synthesis of polychlorinated biphenyls (PCBs) using the Suzuki-coupling. *Chemosphere* 45 (2), 137–143.

- [92] Brückner, R. (2004): Reaktionsmechanismen. Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden. Spektrum Akademischer Verlag, München, Heidelberg, 3. Auflage.
- [93] Miyaura, N., Suzuki, A. (1995): Palladium-Catalyzed Cross-Coupling Reactions of Organoboron Compounds. *Chemical Reviews* 95 (7), 2457–2483.
- [94] Wittmann, V. (2002): Neues von der Suzuki-Reaktion. *Nachrichten aus der Chemie* 50 (10), 1122–1127.
- [95] Grunenberg, J., Hopf, H., Bahadir, M., Pieper, A., Vogt, R., Wichmann, H. (2002): Identification of individual PCT congeners using theoretical vibrational spectra. *Chemical Physics Letters* 366 (1-2), 1–8.
- [96] Atzrodt, J., Derdau, V., Fey, T., Zimmermann, J. (2007): Die Renaissance des H/D-Austausches. *Angewandte Chemie* 119 (41), 7890–7911.
- [97] USEPA/OW/Office of Science and Technology (1994): EPA Method 1613: Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS; Rev. B. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C.
- [98] Hesse, M., Meier, H., Zeeh, B (1979): Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1. Auflage
- [99] Kromidas, S. (2011): Handbuch Validierung in der Analytik. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2. Auflage.
- [100] Deutsches Institut für Normung e.V. (2005): DIN EN ISO/IEC 17025 - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien.
- [101] EURACHEM (1998): The fitness for purpose of analytical methods. A laboratory guide to method validation and related topics. LGC Publ., Teddington, Middlesex.
- [102] Araujo, P. (2009): Key aspects of analytical method validation and linearity evaluation. *Journal of Chromatography B* 877 (23), 2224–2234.
- [103] Deutsches Institut für Normung e.V. (2008): DIN 32645 - Chemische Analytik-Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen- Begriffe, Verfahren, Auswertung.
- [104] EURACHEM (2001): Qualitätssicherung in Forschung und Entwicklung und Nicht-Routineanalytik. Frankfurt/Main.
- [105] Feinberg, M. (2007): Validation of analytical methods based on accuracy profiles. *Journal of Chromatography A* 1158 (1-2), 174–183.

- [106] Feinberg, M., Boulanger, B., Dewe, W., Hubert, P. (2004): New advances in method validation and measurement uncertainty aimed at improving the quality of chemical data. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 380 (3), 502–514.
- [107] Funk, W., Dammann, V., Donnevert, G. (2012): *Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie. Anwendungen in der Umwelt-, Lebensmittel- und Werkstoffanalytik, Biotechnologie und Medizintechnik*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2. Auflage.
- [108] Gustavo González, A., Ángeles Herrador, M. (2007): A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *Trends in Analytical Chemistry* 26 (3), 227–238.
- [109] Taverniers, I., Loose, M. de, van Bockstaele, E. (2004): Trends in quality in the analytical laboratory. I. Traceability and measurement uncertainty of analytical results. *Trends in Analytical Chemistry* 23 (7), 480–490.
- [110] Taverniers, I., Loose, M. de, van Bockstaele, E. (2004): Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance. *Trends in Analytical Chemistry* 23 (8), 535–552.
- [111] Wellmitz, J., Gluschke, M. (2005): *Leitlinie zur Methodenvvalidierung*. Umweltbundesamt, Berlin.
- [112] Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2001): *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*. Mit über 900 Formeln und 620 Tabellen. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 5. Auflage.
- [113] Kromidas, S., Kuss, H.-J. (Hrsg.) (2012): *Chromatogramme richtig integrieren und bewerten. Ein Praxishandbuch für die HPLC und GC*, 1. Auflage. Wiley-VCH, Weinheim.
- [114] Deutsches Institut für Normung e.V. (2015): DIN 38402-51 - Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 51: Kalibrierung von Analysenverfahren - Lineare Kalibrierfunktion (A 51).
- [115] Safe, S., Hutzinger, O. (1972): The Mass Spectra of Polychlorinated Biphenyls. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions* 1 (0), 686–691.
- [116] Edlund, U., Bergson, G. (1971): Enamines from 1-Methyl-2-indanone. *Acta Chemica Scandinavica* 25 (10), 3625–3633.

- [117] Junk, T., Catallo, W. J. (1996): Preparative supercritical deuterium exchange in arenes and heteroarenes. *Tetrahedron Letters* 37 (20), 3445–3448.
- [118] Geiss, F., Sandroni, S., Blech, G. (1967): Zur Synthese und Analyse deuterierter Bi- und Terphenyle. *Journal of Labelled Compounds* 3 (4), 271–292.
- [119] Hawthorne, S. B., Miller, D. J., Aulich, T. R. (1989): Preparation of deuterated aromatic hydrocarbons, heteroatom-containing aromatics, and polychlorinated biphenyls as internal standards for GC/MS analysis. *Fresenius Zeitschrift für Analytische Chemie* 334 (5), 421–426.
- [120] Garnett, J. L., Long, M. A., Vining, R. F. W., Mole, T. (1972): New simple method for rapid, selective aromatic deuteration using organoaluminum dihalide catalysts. *Journal of the American Chemical Society* 94 (16), 5913–5914.
- [121] Atkinson, J. G., Luke, M. O., Stuart, R. S. (1967): A simplified preparation of fully deuterated, high molecular weight hydrocarbons. *Canadian Journal of Chemistry* 45 (13), 1511–1518.
- [122] Burwell, R. L. (1986): Supported platinum, palladium, and rhodium catalysts. *Langmuir* 2 (1), 2–11.
- [123] Keczer, S. A. de, Lane, T. S., Masjedizadeh, M. R. (2004): Uncatalyzed microwave deuterium exchange labeling of bleomycin A2. *Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals* 47 (11), 733–740.
- [124] Cioffi, E. A., Bell, R. H., Le, B. (2005): Microwave-assisted C-H bond activation using a commercial microwave oven for rapid deuterium exchange labeling in carbohydrates. *Tetrahedron: Asymmetry* 16 (2), 471–475.
- [125] Derdau, V., Atzrodt, J., Zimmermann, J., Kroll, C., Brückner, F. (2009): Hydrogen-deuterium exchange reactions of aromatic compounds and heterocycles by NaBD₄-activated rhodium, platinum and palladium catalysts. *Chemistry – A European Journal* 15 (40), 10397–10404.
- [126] Greene, A. K., Scott, L. T. (2013): Rapid, microwave-assisted perdeuteration of polycyclic aromatic hydrocarbons. *The Journal of Organic Chemistry* 78 (5), 2139–2143.
- [127] Albro, P. W., Parker, C. E. (1980): General approach to the fractionation and class determination of complex mixtures of chlorinated aromatic compounds. *Journal of Chromatography A* 197 (2), 155–169.

7 Literatur

- [128] Rieger, S. (2017): Anwendung einer neuen Methode zur Analytik polychlorierter Terphenyle auf ausgewähltes Probenmaterial. Masterarbeit. Technische Universität Braunschweig.
- [129] Wellington Laboratories (2009): Reference and Handling Guide - GC/MS Characterization and analysis of selected halogenated aromatic compounds. Kanada.

Anhang

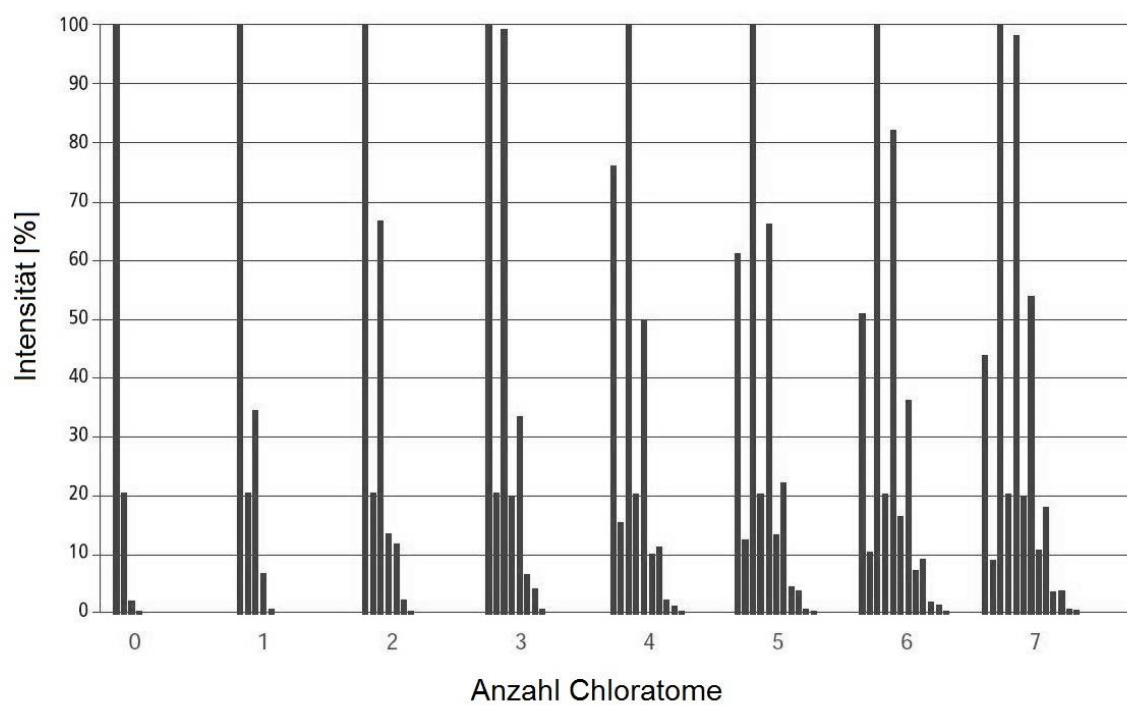


Abbildung A 1: Molekülonen-Cluster von chlorierten aromatischen Verbindungen in EI-Massenspektren [129]

Tabelle A 1: Auszug aus der *F*-Tabelle (P = 99%) [99]

f_1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	4052	4999,5	5403	5625	5764	5859	5928	5982	6022	6056
2	98,50	99,00	99,17	99,25	99,30	99,33	99,36	99,37	99,39	99,40
3	34,12	30,82	29,46	28,71	28,24	27,91	27,67	27,49	27,35	27,23
4	21,20	18,00	16,69	15,98	15,52	15,21	14,98	14,80	14,66	14,55
5	16,26	13,27	12,06	11,39	10,97	10,67	10,46	10,29	10,16	10,05
6	13,75	10,92	9,78	9,15	8,75	8,47	8,26	8,10	7,98	7,87
7	12,25	9,55	8,45	7,85	7,46	7,19	6,99	6,84	6,72	6,62
8	11,26	8,65	7,59	7,01	6,63	6,37	6,18	6,03	5,91	5,81
9	10,56	8,02	6,99	6,42	6,06	5,80	5,61	5,47	5,35	5,26
10	10,04	7,56	6,55	5,99	5,64	5,39	5,20	5,06	4,94	4,85

Tabelle A 2: Flächen, Standardabweichung s und Variationskoeffizient V_k der 6-fachen Messung des 10 pg/ μ L PCT-Mischstandards

PCT	Fläche 1	Fläche 2	Fläche 3	Fläche 4	Fläche 5	Fläche 6	s	V_k [%]
1	393	385	411	410	390	391	11,04	2,78
2	421	385	401	412	421	403	13,80	3,39
3	1116	1025	1052	1047	1085	1075	32,18	3,02
4	1201	1171	1199	1222	1218	1208	18,19	1,51
5	395	412	399	415	421	402	10,17	2,50
6	1394	1352	1305	1298	1355	1301	38,96	2,92
7	1086	1046	1078	1099	1075	1111	22,39	2,07
8	491	481	502	482	508	505	11,82	2,39
9	429	425	401	415	426	409	11,06	2,65
10	622	593	587	601	642	602	20,51	3,37
11	843	805	801	811	832	784	21,51	2,65
12	1220	1221	1231	1263	1305	1253	32,55	2,61
13	1542	1599	1610	1645	1659	1689	51,84	3,19
14	1329	1345	1375	1384	1392	1423	33,73	2,45
15	1102	1187	1094	1110	1145	1095	36,91	3,29
16	597	583	599	601	612	602	9,40	1,57
17	512	512	542	528	530	525	11,50	2,19
18	1499	1453	1485	1563	1538	1526	39,60	2,62
19	457	441	455	468	450	429	13,56	3,01
20	1545	1541	1578	1451	1554	1515	44,02	2,88
21	2187	2112	2114	2154	2278	2175	61,21	2,82
23	5841	5821	5712	5912	5780	5721	76,19	1,31
24	1200	1199	1253	1219	1225	1151	34,14	2,83
25	1574	1623	1612	1678	1688	1605	44,28	2,72
26	582	599	602	574	604	592	11,97	2,02
27	455	427	458	455	432	459	14,25	3,18
28	541	553	556	570	581	591	18,75	3,32
29	159	147	158	159	159	152	5,05	3,24

Tabelle A 3: Flächen, Standardabweichung s und Variationskoeffizient V_k der 6-fachen Messung des 50 pg/ μ L PCT-Mischstandards

PCT	Fläche 1	Fläche 2	Fläche 3	Fläche 4	Fläche 5	Fläche 6	s	V_k [%]
1	8173	7895	7778	7981	8021	7815	145,83	1,84
2	5250	5330	5187	5312	5121	5211	78,81	1,51
3	11232	11600	11351	11415	11299	11374	125,66	1,10
4	10828	10745	10607	10899	10684	10571	126,94	1,18
5	5927	6064	6120	6174	6122	5999	91,12	1,50
6	11930	12109	11965	11865	12041	12202	123,79	1,03
7	9429	9802	9521	9623	9124	9114	274,67	2,91
8	3520	3494	3562	3612	3645	3458	71,41	2,01
9	6220	6278	6312	6102	6251	6012	115,30	1,86
10	6465	6705	6542	6621	6552	6422	102,70	1,57
11	10358	10467	10214	10428	10395	10587	123,47	1,19
12	11452	11354	11214	11502	11523	11333	117,78	1,03
13	12992	13025	12541	12925	13263	13012	235,18	1,81
14	11757	11611	11512	11658	11851	11421	157,21	1,35
15	5153	5222	5245	5103	5111	5199	58,99	1,14
16	10952	10755	10854	10923	10965	10515	171,55	1,58
17	4868	4799	4881	4901	4802	5012	78,24	1,60
18	13260	13250	13312	13421	13189	13621	157,21	1,18
19	9412	9685	9999	9874	9751	9652	201,38	2,07
20	9861	10667	9921	10412	10012	10121	313,15	3,08
21	19219	20105	19999	20021	20072	21001	565,62	2,82
23	19081	19471	19421	19321	19701	19933	297,22	1,53
24	10453	10781	10544	10651	10541	10499	119,10	1,13
25	11289	11314	11614	11523	11251	11274	152,11	1,34
26	4478	4254	4312	4151	4452	4412	126,97	2,92
27	3394	3353	3214	3452	3214	3465	111,85	3,34
28	4896	4810	4920	4765	4999	4568	151,13	3,13
29	843	891	865	891	899	901	22,90	2,60

Tabelle A 4: Flächen, Standardabweichung s und Variationskoeffizient V_k der 6-fachen Messung des 100 pg/ μ L PCT-Mischstandards

PCT	Fläche 1	Fläche 2	Fläche 3	Fläche 4	Fläche 5	Fläche 6	s	V_k [%]
1	15968	15999	16087	16237	16521	16714	302,62	1,86
2	12156	11957	11921	11987	12001	12112	91,81	0,76
3	20776	20154	20411	20458	20548	20874	260,62	1,27
4	21126	22156	21457	21467	21541	21126	377,36	1,76
5	11925	11363	11552	11557	11623	11780	196,07	1,69
6	22222	22223	22281	22542	22741	22954	305,85	1,36
7	18775	17954	17985	18320	18666	18711	370,30	2,01
8	6781	6892	6987	7012	7025	7021	97,72	1,41
9	12189	12012	12213	12413	12541	12628	234,46	1,90
10	11024	11110	11113	11245	11274	11200	94,89	0,85
11	20126	20456	20457	20467	20541	20126	185,64	0,91
12	20469	20654	20686	20781	21036	21087	237,08	1,14
13	25881	25477	25894	26073	26765	25871	425,64	1,64
14	22214	22791	22989	23368	22402	22541	421,06	1,85
15	9654	9754	9870	9912	9964	9965	124,93	1,27
16	20822	21317	21021	20812	20987	21244	210,14	1,00
17	9330	9351	9512	9372	9399	9488	74,73	0,79
18	24427	23091	23455	23755	23994	24012	468,77	1,97
19	19452	19231	19211	19032	18963	18777	236,80	1,24
20	20941	20872	20734	20651	20542	20452	188,51	0,91
21	41521	41963	42078	42281	42517	42578	392,58	0,93
23	26855	26924	26825	26364	27459	27461	420,25	1,56
24	22282	22843	22021	22404	22548	22689	294,72	1,31
25	20121	20164	20354	20659	20789	20888	327,75	1,60
26	9387	9235	9222	9213	9120	8900	161,69	1,76
27	6313	6485	6471	6578	6666	6641	130,85	2,01
28	8640	8721	8754	8792	9001	9011	152,70	1,73
29	1582	1542	1599	1571	1623	1602	28,18	1,78

Tabelle A 5: Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 1

PCT	c_1	c_2	c_3	c_4	c_5	c_6	s	V_k
	[pg/ μ L]	[pg/ μ L]	[pg/ μ L]	[pg/ μ L]	[pg/ μ L]	[pg/ μ L]	[pg/ μ L]	[%]
1	49,61	48,78	49,89	48,55	51,26	51,76	1,30	2,59
2	44,45	43,55	45,74	44,44	46,74	46,62	1,31	2,88
3	44,88	44,74	46,88	43,52	45,84	47,27	1,42	3,11
4	47,28	47,02	47,28	46,12	50,70	48,04	1,58	3,30
5	45,74	45,23	46,88	45,92	45,90	48,91	1,33	2,86
6	48,47	49,96	50,75	48,07	51,85	50,85	1,47	2,94
7	56,54	54,75	59,04	54,60	59,80	60,98	2,70	4,69
8	68,98	73,56	71,58	69,12	69,81	70,41	1,74	2,47
9	45,04	44,65	47,13	45,03	47,57	48,11	1,52	3,28
10	43,52	42,74	44,90	45,31	46,18	45,22	1,27	2,85
11	44,17	44,39	46,27	45,05	47,87	47,09	1,51	3,29
12	44,52	45,23	46,35	44,95	46,22	48,56	1,46	3,17
13	36,20	35,18	36,05	35,47	37,30	37,24	0,88	2,43
14	30,28	30,81	30,41	31,19	32,82	32,39	1,06	3,38
15	45,86	44,33	44,15	43,68	46,30	45,67	1,08	2,39
16	43,61	43,66	45,71	43,44	43,48	45,35	1,03	2,33
17	43,71	42,30	41,48	39,78	43,21	42,99	1,43	3,39
18	46,85	46,25	47,77	45,91	49,49	49,30	1,53	3,21
19	51,81	49,88	50,51	48,80	48,90	52,47	1,51	2,99
20	51,33	52,08	52,53	51,55	51,75	56,03	1,76	3,35
21	49,53	48,41	50,79	49,29	52,49	51,73	1,56	3,11
23	51,49	51,31	54,33	51,29	54,86	54,52	1,77	3,34
24	46,72	44,81	46,70	43,34	46,46	47,49	1,31	3,36
25	48,12	48,57	51,90	48,21	48,46	51,07	1,65	3,35
26	67,62	60,47	61,30	64,32	67,21	66,32	3,06	4,74
27	60,70	65,82	61,99	62,04	65,51	68,92	3,11	4,85
28	56,36	56,57	56,80	54,93	53,27	55,76	1,33	2,39
29	73,92	72,72	69,38	71,71	67,08	68,93	2,59	3,66

Tabelle A 6: Konzentrationen c, Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 2

PCT	c₁	c₂	c₃	c₄	c₅	c₆	s	V_k
	[pg/μL]	[pg/μL]	[pg/μL]	[pg/μL]	[pg/μL]	[pg/μL]	[pg/μL]	[%]
1	48,37	49,89	44,56	51,19	45,21	47,66	2,59	5,41
2	45,28	45,35	42,50	47,10	44,23	45,26	1,52	3,38
3	44,39	43,79	41,73	45,21	43,64	43,44	1,16	2,66
4	41,52	40,65	40,21	40,66	41,66	40,62	0,57	1,40
5	50,00	49,02	45,81	48,89	45,67	48,35	1,80	3,75
6	47,85	57,82	48,32	53,98	45,25	53,75	4,75	9,29
7	62,17	58,84	52,72	63,52	53,20	52,64	4,98	8,72
8	70,11	62,01	60,57	64,71	51,43	61,23	6,11	9,91
9	48,35	48,99	48,59	49,90	49,22	49,04	0,54	1,09
10	35,01	31,84	33,96	36,04	31,97	32,32	1,76	5,24
11	38,15	34,38	37,44	39,60	36,05	34,63	2,06	5,60
12	42,43	39,21	40,10	43,36	41,04	39,42	1,68	4,10
13	21,20	17,52	21,73	23,50	18,10	17,33	2,59	13,01
14	16,20	13,94	17,08	19,68	14,22	13,52	2,37	15,01
15	43,23	47,25	38,97	42,78	42,05	41,75	2,69	6,31
16	43,90	42,38	41,81	43,88	44,37	42,57	1,03	2,39
17	25,97	22,23	25,81	25,90	22,80	22,04	1,95	8,09
18	39,05	35,61	37,06	39,08	38,51	35,70	1,61	4,29
19	51,33	60,46	48,98	59,22	53,41	52,31	4,56	8,40
20	59,70	60,90	51,36	60,75	52,43	55,66	4,26	7,50
21/22	44,02	47,29	46,34	48,66	40,14	46,46	3,02	6,65
23	41,91	40,55	37,12	44,72	35,57	41,24	3,33	8,29
24	42,34	40,88	39,33	42,30	42,90	40,78	1,33	3,22
25	59,13	60,24	53,60	59,33	49,63	51,06	4,65	8,38
26	59,26	57,73	52,32	56,17	51,71	55,22	2,97	5,36
27	58,31	61,85	53,63	64,86	52,13	58,45	4,81	8,26
28	64,02	55,82	51,46	56,85	49,97	52,60	5,08	9,21
29	69,43	58,85	60,32	70,60	62,80	64,54	4,77	7,41

Tabelle A 7: Konzentrationen c, Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 3

PCT	c₁ [pg/μL]	c₂ [pg/μL]	c₃ [pg/μL]	c₄ [pg/μL]	c₅ [pg/μL]	c₆ [pg/μL]	s [pg/μL]	V_k [%]
1	46,69	50,12	45,58	48,40	50,14	53,77	2,92	5,94
2	42,84	46,91	43,51	45,60	48,66	52,27	3,50	7,50
3	43,53	45,90	42,72	42,64	47,27	49,25	2,71	5,99
4	43,30	44,15	42,14	44,40	47,06	50,28	2,97	6,56
5	44,59	47,53	45,24	48,29	52,61	54,00	3,84	7,88
6	51,98	51,14	48,04	56,02	61,16	61,62	5,57	10,13
7	78,12	77,32	71,57	69,52	64,30	65,41	5,82	8,19
8	62,25	71,09	62,49	62,93	72,73	76,80	6,30	9,26
9	44,40	46,78	45,09	46,98	52,64	57,87	5,24	10,71
10	37,27	34,88	35,55	36,10	37,19	40,12	1,85	5,02
11	37,37	35,98	36,00	38,53	40,68	44,32	3,22	8,30
12	40,80	40,42	39,60	41,35	44,72	49,92	3,91	9,14
13	19,19	18,04	17,86	9,94	11,70	15,95	3,77	24,42
14	14,67	14,29	13,63	8,27	9,06	11,66	2,75	23,02
15	44,08	42,93	39,47	41,91	47,11	51,13	4,13	9,30
16	42,35	43,78	41,64	43,70	46,55	49,12	2,81	6,32
17	24,54	22,89	22,20	27,19	28,64	25,67	2,48	9,85
18	38,62	38,41	37,60	37,99	43,45	44,27	2,98	7,43
19	51,94	48,70	47,58	53,89	59,72	59,13	5,12	9,57
20	57,71	47,88	47,06	51,43	56,06	58,12	4,93	9,30
21/22	47,54	50,10	46,10	48,19	51,35	56,52	3,71	7,43
23	38,55	44,40	36,92	37,06	41,34	38,15	2,92	7,41
24	43,59	45,49	42,51	41,38	46,80	44,71	1,99	4,51
25	44,42	48,25	45,86	52,19	52,72	55,32	4,28	8,60
26	57,19	63,71	56,05	57,09	63,93	65,59	4,25	7,01
27	60,69	65,47	61,26	60,86	61,09	74,07	5,30	8,29
28	51,39	55,74	50,31	48,04	46,10	42,49	4,57	9,33
29	70,33	80,80	63,47	71,79	74,62	75,20	5,78	7,95

Tabelle A 8: Konzentrationen c, Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der Analyse 4

PCT	c₁ [pg/μL]	c₂ [pg/μL]	c₃ [pg/μL]	c₄ [pg/μL]	c₅ [pg/μL]	c₆ [pg/μL]	s [pg/μL]	V_k [%]
1	46,04	52,79	52,41	51,43	50,76	49,17	2,51	4,97
2	45,79	47,35	47,22	46,57	48,93	46,07	1,13	2,40
3	46,47	46,43	46,62	46,92	48,19	45,79	0,80	1,72
4	46,49	46,12	46,14	45,68	46,81	45,52	0,48	1,05
5	50,09	52,12	51,84	52,65	52,93	50,61	1,13	2,19
6	52,93	63,00	55,69	63,29	60,91	63,81	4,56	7,60
7	54,61	59,16	57,20	62,57	59,89	59,16	2,67	4,55
8	60,20	64,71	62,45	62,74	65,68	63,11	1,91	3,03
9	48,33	50,49	49,39	52,98	51,56	49,75	1,66	3,29
10	34,68	37,05	36,79	37,24	38,37	37,08	1,20	3,27
11	39,77	41,79	42,43	42,07	41,91	40,77	0,99	2,40
12	44,56	44,95	45,65	45,02	44,65	44,08	0,53	1,17
13	20,33	22,68	23,14	22,64	23,40	21,66	1,14	5,10
14	15,41	17,45	17,77	16,98	18,32	16,48	1,03	6,03
15	41,09	42,91	43,89	44,63	45,46	46,01	1,80	4,10
16	47,22	46,83	47,25	46,35	47,81	46,63	0,52	1,10
17	29,71	29,52	30,25	29,97	30,13	30,54	0,37	1,23
18	42,80	41,43	43,66	43,67	42,75	42,54	0,83	1,94
19	51,38	56,10	57,75	60,57	59,95	57,15	3,30	5,77
20	47,76	51,89	49,45	49,93	51,87	51,40	1,64	3,26
21/22	44,87	50,51	49,55	52,64	53,84	50,92	3,11	6,18
23	45,04	49,68	52,15	51,32	54,44	51,00	3,15	6,22
24	41,38	44,22	43,71	43,44	44,98	45,11	1,36	3,11
25	52,57	52,94	50,77	51,28	53,74	51,16	1,18	2,26
26	57,63	59,15	58,62	58,49	59,82	58,87	0,73	1,24
27	60,63	63,06	60,76	63,85	63,06	62,09	1,32	2,12
28	56,20	55,89	56,09	55,12	56,20	55,48	0,44	0,79
29	67,78	71,01	72,56	70,64	73,67	70,66	2,01	2,83

Tabelle A 9: Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k der klassischen Florisil-Säule

PCT	c_1 [pg/μL]	c_2 [pg/μL]	c_3 [pg/μL]	s [pg/μL]	V_k [%]
1	59,41	53,33	52,66	3,72	6,74
2	53,37	48,86	51,01	2,25	4,41
3	52,14	49,17	49,21	1,71	3,40
4	50,69	47,88	49,17	1,41	2,85
5	57,46	52,37	51,41	3,25	6,05
6	46,65	46,89	49,24	1,43	3,01
7	54,01	59,58	59,51	3,20	5,54
8	68,25	68,81	69,69	0,73	1,05
9	63,31	57,94	56,31	3,66	6,19
10	45,68	45,31	43,24	1,31	2,94
11	54,10	50,82	50,89	1,87	3,60
12	54,64	50,35	51,79	2,18	4,18
13	39,88	38,82	41,17	1,18	2,94
14	36,85	36,35	36,18	0,35	0,96
15	50,14	48,29	49,63	0,95	1,93
16	53,78	49,91	51,24	1,97	3,81
17	47,94	45,92	49,85	1,97	4,10
18	50,46	47,97	47,50	1,59	3,27
19	47,92	46,14	46,37	0,97	2,07
20	42,04	40,87	41,38	0,59	1,42
21/22	59,49	52,21	52,16	4,22	7,72
23	54,45	52,43	53,20	1,02	1,91
24	46,98	44,96	45,15	1,12	2,44
25	46,81	47,52	47,50	0,40	0,85
26	57,87	56,82	57,89	0,61	1,06
27	67,56	63,99	62,75	2,50	3,85
28	51,54	51,23	51,54	0,18	0,34
29	71,59	72,91	74,75	1,59	2,17

Tabelle A 10: Konzentrationen c , Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k des HPLC Florisil-Versuches 1

PCT	c_1 [pg/μL]	c_2 [pg/μL]	c_3 [pg/μL]	s [pg/μL]	V_k [%]
1	49,71	49,34	51,92	1,40	2,77
2	53,26	52,18	50,04	1,64	3,16
3	49,74	49,12	49,01	0,39	0,80
4	49,81	50,70	53,04	1,67	3,26
5	48,81	49,53	51,96	1,65	3,30
6	48,57	48,50	49,52	0,57	1,16
7	53,77	54,74	55,54	0,89	1,62
8	63,29	61,70	63,11	0,87	1,38
9	49,03	48,48	50,79	1,21	2,44
10	49,34	48,49	48,42	0,51	1,05
11	51,97	50,02	50,50	1,01	1,99
12	52,58	52,23	51,80	0,39	0,75
13	46,54	46,66	44,96	0,95	2,05
14	45,22	45,62	43,65	1,04	2,33
15	50,10	50,49	52,12	1,07	2,11
16	51,38	49,92	52,63	1,35	2,64
17	51,30	48,19	50,72	1,65	3,30
18	48,14	48,61	46,52	1,10	2,30
19	49,95	52,09	50,64	1,09	2,15
20	42,56	41,66	44,08	1,23	2,86
21/22	46,33	44,68	46,73	1,09	2,37
23	42,70	42,25	42,02	0,35	0,82
24	46,94	46,48	44,06	1,55	3,38
25	45,92	45,25	46,54	0,64	1,40
26	58,64	59,70	61,15	1,26	2,11
27	63,78	62,49	60,34	1,74	2,80
28	52,83	49,94	50,65	1,50	2,94
29	68,06	67,67	69,10	0,74	1,08

Tabelle A 11: Konzentrationen c, Standardabweichungen s und Variationskoeffizienten V_k des HPLC Florisil-Versuches 2

PCT	c₁ [pg/μL]	c₂ [pg/μL]	c₃ [pg/μL]	s [pg/μL]	V_k [%]
1	66,48	64,24	67,44	1,64	2,48
2	46,06	45,36	46,81	0,73	1,58
3	46,49	45,82	46,37	0,36	0,77
4	44,71	44,04	45,34	0,65	1,45
5	50,26	49,20	50,74	0,79	1,58
6	46,91	46,97	48,29	0,78	1,65
7	53,80	54,24	54,26	0,26	0,48
8	63,88	63,54	66,14	1,42	2,19
9	52,96	51,14	54,33	1,60	3,03
10	40,90	41,17	42,96	1,12	2,68
11	45,68	43,28	45,05	1,24	2,78
12	45,68	43,71	45,21	1,03	2,29
13	37,78	37,57	36,31	0,80	2,14
14	43,97	42,72	42,27	0,88	2,04
15	46,26	46,82	46,41	0,29	0,61
16	45,05	45,00	45,06	0,03	0,06
17	42,79	42,87	42,85	0,04	0,10
18	44,64	42,30	43,34	1,17	2,70
19	48,47	48,22	50,47	1,23	2,51
20	46,56	45,35	47,46	1,06	2,27
21/22	44,56	43,36	44,66	0,72	1,63
23	52,05	52,30	54,25	1,20	2,27
24	38,40	36,01	37,66	1,22	3,27
25	50,42	49,88	51,94	1,07	2,10
26	53,02	52,70	54,01	0,69	1,29
27	53,17	52,28	52,10	0,57	1,09
28	53,28	54,15	54,15	0,50	0,93
29	71,91	69,81	69,26	1,40	1,99